

Пояснювальна записка до магістерської дисертації

на тему: «Дослідження удосконаленої конструкції перемішуючого пристрою для
single-use біореактора»

Київ — 2019 року

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біотехніки та інженерії

Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Спеціальність 133 – Галузеве машинобудування

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри, д.т.н., проф.

Мельник В.М.

«13» листопада 2019 р.

ЗАВДАННЯ

на магістерську дисертацію студенту

Яремчуку Михайлу Миколайовичу

1. Тема дисертації: «Дослідження удосконаленої конструкції перемішуючого пристрою для single-use біореактора»

науковий керівник дисертації Костик Сергій Ігорович, д.т.н.

затверджені наказом по університету від «01» листопада 2019 р. № 3858

2. Термін подання студентом дисертації 11.12.19

3. Об'єкт дослідження: Перемішуючий пристрій Single-use біореактора .

4. Предмет дослідження: Потоки рідин що утворюються під час процесу перемішування з використанням вдосконаленої мішалки.



5. Перелік завдань, які потрібно розробити: літературний огляд за темою дисертації; теоретичні дослідження; комп'ютерне моделювання перемішування з використанням розробленої конструкції перемішуючого пристрою; практична реалізація розробленої конструкції; дослідження економічної доцільності виробництва і реалізації запропонованої конструкції перемішуючого пристрою.

6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу: Апаратурно-технологічна схема (А1); Ферментер. Складальне креслення (А1); Вдосконалена триярусна турбінна мішалка (А1); Кришка(А2); Корпус-сорочка (А3); Статичні розрахунки апарата (А1); Моделювання процесу перемішування (А1).

7. Орієнтовний перелік публікацій: Яремчук М.М. КОНСТРУКЦІЙНІ ОСОБЛИВОСТІ СТЕРИЛІЗАЦІЙНИХ ТУНЕЛЕЙ ВИРОБНИЦТВА АСЕПТИЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ // «Біотехнологія ХХІ століття»: тези доповідей XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції присвяченої 185-річчю з дня народження Дмитра Івановича Менделєєва, Київ, 19 квітня 2019 р. – Секція 4 «Біотехніка».-с.165.

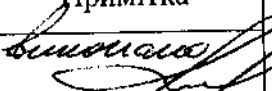
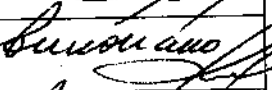
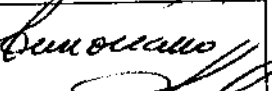
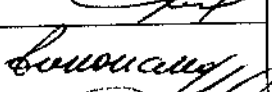
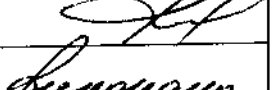
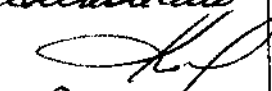
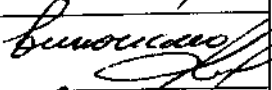
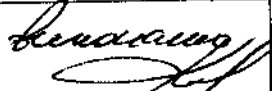
Яремчук М. М., Костик С. І., Шибєцький В. Ю. ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ ГОМОГЕНІЗАЦІЇ ПРИ РОБОТІ ТРИЯРУСНОЇ ЗАКРИТОЇ ТУРБІННОЇ МІШАЛКИ // «Технологічний аудит та резерви виробництва»: звіт про науково-дослідні роботи, Харків, 18 грудня 2019 р. с- .

8. Консультанти розділів дисертації*

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Біотехнологія	Дзигун Л.П., ст. викл.		

9. Дата видачі завдання: 02.09.2019

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Огляд літератури; дослідження стану проблеми	02.09.2019-05.11.2019	Виконано 
2	Теоретичні дослідження; розробка математичної моделі	11.10.2019-19.11.2019	Виконано 
3	Патентний пошук; розробка конструкції лабораторного фотобіореактора	09.09.2019-13.10.2019	Виконано 
4	Проведення комп'ютерного моделювання; оформлення результатів експерименту	11.11.2019-04.12.2019	Виконано 
5	Практична реалізація; розроблення технічної документації на лабораторний фотобіореактор	02.11.2019-28.11.2019	Виконано 
6	Розроблення стартап-проекту	07.11.2019-07.12.2019	Виконано 
7	Оформлення пояснювальної записки, креслень та документації	09.09.2019-07.12.2019	Виконано 
8	Підготовка до захисту	08.12.2019-17.12.2019	Виконано 

Студент

Науковий керівник дисертації

М.М. Яремчук

С.І. Костик

Реферат

Магістерська робота на здобуття освітньо-кваліфікаційного рівня «магістр» на тему «Дослідження удосконаленої конструкції перемішуючого пристрою для single-use біореактора» /НТУУ «КПІ імені Ігоря Сікорського». Керівник к.т.н., Костик С.І. Виконавець Яремчук М.М., студент групи БІ-81мп,

Текстова частина даного магістерського проекту складається з 83 сторінок. З яких 26 сторінок складають розрахунки що підтверджують надійність та працездатність апарату, 11 сторінок економічних розрахунків та 49 сторінки теоретичної частини. Пояснювальна записка також містить 29 зображень 13 таблиць та 3 додатки.

Метою даного проекту є розробка вдосконаленого перемішуючого пристрою для Single-use біореактора, який би мав вищу ефективність меншу ціну та носив покращенні техніко-економічні властивості порівняно з існуючими перемішуючими пристроями для біореакторів.

Запропонована конструкція є монолітною, забезпечує високу якість Культивування. Даний пристрій може бути встановлений практично у кожному біореакторі й не вимагає особливого до себе відношення.

Використана методика розробки та доведення ефективності перемішуючого шжстрою може бути використана при проектуванні нових конструкцій механічних перемішуючих пристроїв.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: SINGLE-USE БІОРЕАКТОР, ПЕРЕМІШУЮЧИЙ ПРИСТРІЙ, УДОСКОНАЛЕННЯ.

Abstract

Master's work on obtaining the educational-qualification level "Master's degree" on "Research of advanced design of mixing device for single-use bioreactor" / NTUU "KPI named by Igor Sikorsky". Scientific director PhD, Associate Professor of Engineering, Kostyk S.I. Performer Yaremchuk M.M., student of the group BI-81mp,

The textual part of this master's project consists of 83 pages. Of which 26 pages are calculations confirming the reliability and efficiency of the machine, 11 pages of economic calculations and 49 pages of theoretical part. The explanatory note also contains 29 images of 13 tables and 3 appendices.

The purpose of this project is to develop an improved mixer for Single-use bioreactor, which would be less cost effective and have improved technical and economic properties compared to existing bioreactor mixers.

The proposed construction is monolithic, provides high quality cultivation. This device can be installed in virtually every bioreactor and does not require special treatment.

The method used to design and prove the effectiveness of the mixing device can be (used in the design of new designs of mechanical mixing devices.

KEYWORDS: SINGLE-USE BIORACTOR, MIXER, IMPROVEMENT.

Зміст

Перелік скорочень, умовних позначень та термінів.....	9
ВСТУП.....	11
1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	12
1.1 Single-use біореактори.....	12
1.2 Огляд конструкції Single-use біореакторів.....	13
1.3 Переваги та недоліки Single-use біореакторів.....	19
1.4 Екологічні чинники.....	20
1.5 Мета і задачі досліджень.....	21
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	25
3.1 Мета та задачі досліджень.....	25
3.2 Опис експериментальної установки.....	25
3.3 Методика проведення експерименту.....	27
3.4 Аналіз результатів експериментів.....	28
3.5 Висновки.....	29
4 КОМП'ЮТЕРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСУ ПЕРЕМІШУВАННЯ З ВИКОРИСТАННЯ МІШАЛКИ РОЗРОБЛЕНОЇ КОНСТРУКЦІЇ.....	30
4.1 Методика проведення досліджень.....	31
4.2 Методика експерименту по встановленню ефективності гомогенізації при і перемішуванні тріярусною закритою турбінною мішалкою.....	31
4.3 Моделювання гідродинаміки при роботі мішалки.....	32
4.4 Висновки.....	34
5 ПРАКТИЧНА РЕАЛІЗАЦІЯ РОЗРОБЛЕНОЇ КОНСТРУКЦІЇ БІОРЕАКТОРА	35
5.1 Опис і обґрунтування обраної конструкції.....	37
5.2 Опис та новизна конструкції.....	41

5.3	Технічні характеристики.....	44
5.4	Розрахунки, що підтверджують працездатність та надійність конструкції	
5.5	Конструктивний розрахунок.....	46
5.6	Розрахунок перемішуючого пристрою.....	46
5.7	Тепловий розрахунок.....	49
5.8	Розрахунок барботера.....	54
5.9	Висновки.....	55
6	РОЗРАХУНОК НА МІЦНІСТЬ ТА СТІЙКІСТЬ.....	56
6.1	Розрахунок на міцність та стійкість біореактора.....	56
6.2	Розрахунок на міцність і стійкість корпусу-сорочки	65
6.3	Висновки.....	70
7	РЕКОМЕНДАЦІЇ ПО МОНТАЖУ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ.....	71
8	СТАРТАП.....	75
	ВИСНОВКИ.....	86
	ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	87
	Додаток А.....	90
	Додаток Б.....	91
	Додаток В.....	92

Перелік скорочень, умовних позначень та термінів

P – реактор;

Φ – фільтр;

Π – центрифуга;

C – сепаратор;

$C_{ш}$ – сушарка;

Z – змішувач;

G_e – масова витрата води m^3 ;

φ – коефіцієнт заповнення апарата;

t_c – температура що повинна зберігатись в апарат $^{\circ}C$;

t'_c – початкова температура теплоносія $^{\circ}C$;

t''_c – кінцева температура теплоносія $^{\circ}C$;

μ_c – динамічна в'язкість середовища $(Pa \cdot s)$;

c_c – теплоємність середовища $(kJ/kg \cdot K)$;

ρ_c – густина поживного середовища (kg/m^3) ;

λ_c – теплопровідність поживного середовища $(W/m \cdot K)$;

V_p – робочий об'єм ферментера (m^3) ;

D_{in} – внутрішній діаметр ферментера (m) ;

H – висота ферментера (m) ;

V_{dn} – об'єм днища ферментера (m^3) ;

d_m – діаметр мішалки (m) ;

h_m – висота лопаті мішалки (м);

l – ширина лопаті мішалки (м);

ω – кутова швидкість мішалки (м/с);

N_m – потужність, що споживається мішалкою (кВт);

Re_n – число Рейнольдса;

d_a – діаметр вала мішалки (м);

S_c – ширина сальникової набивки (м);

ΔH – тепловиділення середовища (кДж/кг);

G_0 – кількість тепла, що виділяє культура (кВт);

F – площа поверхні теплообміну (м²);

α_i – коефіцієнт теплопровідності від середовища, що переміщується до стінки ферментера (Вт/м²·К);

Nu_c – число Нюсельта;

Pr_c – число Прандтля;

$d_{\text{звн а}}$ – зовнішній діаметр апарата (м);

$D_{\text{вн с}}$ – внутрішній діаметр сорочки (м);

ω_6 – швидкість води, що подається у рубашку (м/с);

k – коефіцієнт теплопередачі.

ВСТУП

Фармацевтика одна з найприбутковіших галузей у світі, адже кожен з нас турбується про своє здоров'я. Варто сказати, що людство вже досягнуло значного результату у цій галузі, величезна кількість хвороб подолана, деякі пішли в історію, але нові небезпеки чатують на нас на кожному кроці і для боротьби з ними ми повинні використовувати найновіші методи та розробки, пришвидшувати культивування активних речовин, зменшувати тривалість виробництва, підвищувати якість ліків, які виробляються.

Для проведення культивування на фармацевтичних заводах сьогодні використовують величезні біореактори, які після кожного використання потребують очищення, це передбачає використання великої кількості хімії, часу, а відповідно і коштів. Також при роботі з такими агрегатами працівниками може бути занесена патогенна мікрофлора, що спричинить непридатність всього вихідного продукту. Потрібно шукати вихід, і він є.

Рішення цієї проблеми давно відоме, це single-use біореактори, але вони мало застосовуються через ряд проблем. У своєму магістерському проекті я пропоную шлях вирішення однієї з таких проблем, а саме покращення конструкції турбінної мішалки для використання у single-use біореакторі, що пришвидшить процес культивування, та підвищить якість готового продукту.

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Single-use біореактори

Біореактор одноразового використання - це біореактор з одноразовою посудиною для культури, що вирощується. Біореактори одноразового використання дозволяють реалізацію одноразових технологій на етапах виробничого процесу, які раніше були зарезервовані для обладнання з нержавіючої сталі. Існує два основні типи біореакторів одноразового використання: перемішування та гойдання. Перемішувальний біореактор використовує одноразові матеріали, які вже вбудовані в пластикову посудину. Мішалка встановлена в біореакторі, і з'єднана з рушієм механічно або магнітно. Хвильовий біореактор, збуджується рухомою поверхнею на якій він знаходиться і не потребує внутрішнього розташування перемішувальних пристроїв. На сьогодні існує декілька етапів процесу культивування, включаючи підготовку носіїв, культивування клітин, розвиток процесів, оптимізацію процесів та мікробні процеси. Автоклавовання традиційного біореактора може стати тривалим, дорогим та непослідовним зусиллям у вашому фармацевтичному виробничому процесі. Оскільки процес використання одноразових біореакторів передбачає попередньо простерилізовані установки, вони значно скорочують додаткові витрати та час стерилізації. Оснащені менш рухомими деталями, ніж традиційні біореактори, біореактори одноразового використання дешевші в обслуговуванні. Основні моменти, які слід враховувати при придбанні одноразових біореакторів, включають: вартість, бажаний робочий об'єм, розміри, потужність та контроль температури. Зеконормити на витратах на енергоресурси, технічне обслуговування та мийні засоби за допомогою біореакторів одноразового використання, легко.

Доступні етапи процесу одноразового використання: підготовка носія та буфера, збирання клітин, фільтрація, очищення та інактивація вірусу. Виробники включають Cellexus зі своїм CellMaker із системою підйому повітря для виробництва бактерій, PBS Biotech, Inc. із своїм новим механізмом перемішування Air-Wheel та низьким зсувом та масштабованістю від лабораторії до виробництва. GE Healthcare Life Sciences зі своїм хвильовим біореактором марки WAVE,

біореактором для одноразового використання та Thermo Scientific, із традиційним підходом до перемішування на базі валу робочого колеса. Тільки Sartorius Stedim, PBS Biotech, Thermo Fisher Hyclone та Xcellerex (тепер це частина GE Healthcare Life Sciences) мають змогу забезпечити повномасштабне рішення для повного біопроцесу від лабораторії до виробництва. Альянс BioProcess Systems (BPSA) - це об'єднання, яке виступає за широке застосування одноразового використання, щоб включати в себе GMP, яка потребує підтримки FDA. Агентство заявляє на громадських форумах, що це головний фактор технології одноразового використання в цілому, оскільки ця технологія забезпечує значні переваги та цінність, включаючи пом'якшення перехресного забруднення та зменшення галузевих витрат. Одноразове використання показало велику економію витрат і підвищило гнучкість процесу та оперативну ефективність для біоподібних застосувань, а також для біотехнологічних стартапів та CRO. Очікується, що ринки, що розвиватимуться, охоплюватимуть одноразове використання та стандартне, враховуючи відсутність у них застарілої інфраструктури та бажання скоротити витрати на операції з експлуатації біотехнологій. Сьогодні ринок складає близько \$ 200 млн. Та може вирости до 1 млрд. Дол. США або більше протягом наступних 4-5 років.

1.2 Огляд конструкції Single-use біореакторів

Попит породжує пропозицію, ця давно відома істина дала поштовх для виникнення компаній, що займаються виробництвом біореакторів одноразового використання. Сьогодні на ринку існує велика кількість компаній зі всього світі які займаються проблемою розробки, вдосконалення виготовлення та постачання біореакторів одноразового використання для фармацевтичних підприємств, лабораторій та інших організацій пов'язаних фармацевтичною галуззю. Нижче наводяться деякі компанії та типи біореакторів одноразового використання.

Компанією GE Healthcare Life Sciences (США) пропонується система культивування клітинних культур у суспензійному вигляді в гнучкій пластиковій місткості об'ємом до 500 л, що знаходиться на рухомій платформі (Рисунок 1). Платформа здійснює коливальні рухи в горизонтальній площині, забезпечуючи умови суспензійного культивування [8].

Закрита система не потребує кімнати біологічної безпеки. Wave технології, ідо представлені хвильовими біореакторами, широко використовуються для отримання моноклональних антитіл. Діапазон об'ємів культивування 100 мл 580 л дає змогу отримувати концентрацію клітин до $10 \cdot 10^6$ кл/мл. Концентрація розчиненого кисню залишається на рівні, вищому за 50% насичення без використання бульбашкової аерації. Хвильові біореактори можуть бути використані як для суспензійних культур, так і для культивування з використанням мікроносіїв.

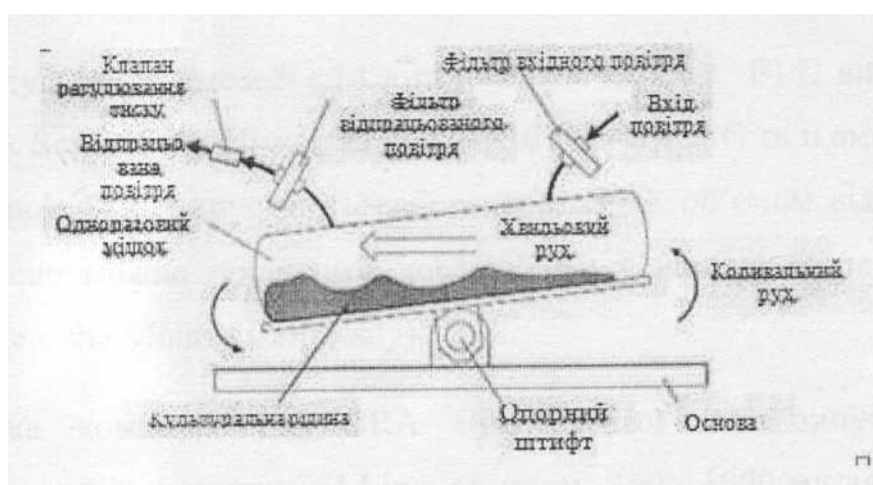


Рисунок 1. Установа Wave Bioreactor для культивування клітинних культур

Фірма Sartorius випускає одноразовий, повністю зібраний і готовий до використання полікарбонатний біореактор для ефективного лабораторного культивування клітин тварин, моноклональних антитіл, біомаси як посівного матеріалу моделі SuperSpinner D1000 об'ємом від 200 мл до 8 л (Рисунок 2).

Головна особливість ферментера SuperSpinner D1000 — наявність мембранної мішалки, яка дозволяє проводити кероване й ретельне перемішування, а також без пухирцеву аерацію, що виключає утворення піни. Принцип роботи мембранної

мішалки полягає в тому, що на основу мішалки намотується низка поліпропіленових порожнистих волокон з нанопорами, крізь які просочується аераційне повітря.

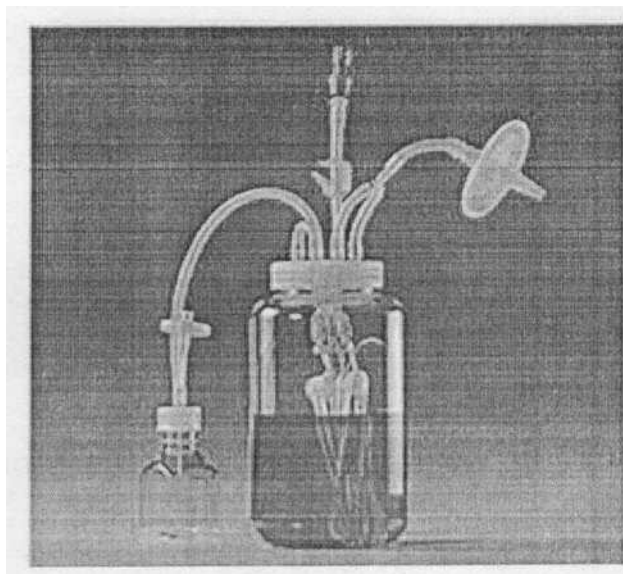


Рисунок 2. Одноразовий ферментер SuperSpinner D1000

Схожу продукцію об'ємом 5 і 14 л під назвою CelliGe BLU виробляє компанія New Brunswick Scientific's. Німецька компанія DASGIP AG та її американська філія DASGIP BioTools LLC випускають лабораторні ОФА об'ємом від 0,4 до 5 л, при цьому одночасно можна проводити дослідження у восьми біореакторах (Parallel Bioreactor System the Möbius CellReady).

Швейцарська компанія INTEGRA Bio sciences AG випускає одноразові двокамерні біореактори типу CELLline об'ємом 350 - 1000 мл для лабораторного біосинтезу мнноклональних тіл у гібридомі, рекомбінантних протеїнів, вірусів, культур клітин високої густини (CELLline CL 350, CELLline CL 1 000, CELLline AD 1000) (Рисунок 3.). Особливістю цих ОФА є те, що біореактор складається з двох камер. У верхній міститься розчин з живильним середовищем, а в нижній — культуральна рідина. Камери розділяє напівпроникна ацетатцелюлозна мембрана, крізь яку безперервно дифундують поживні речовини і виводяться продукти метаболізму. Передача газу здійснюється через силіконову мембрану, яка розташована внизу робочої камери (Рисунок 4).

Зауважимо, що CELLine AD призначена для культивування клітин, яким необхідна іммобілізація на поверхнях (anchorage dependent cells).

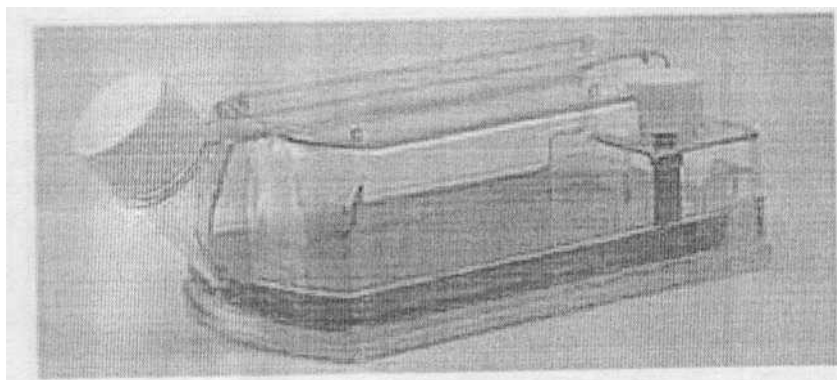


Рисунок 3. Одноразовий біореактор типу CELLline

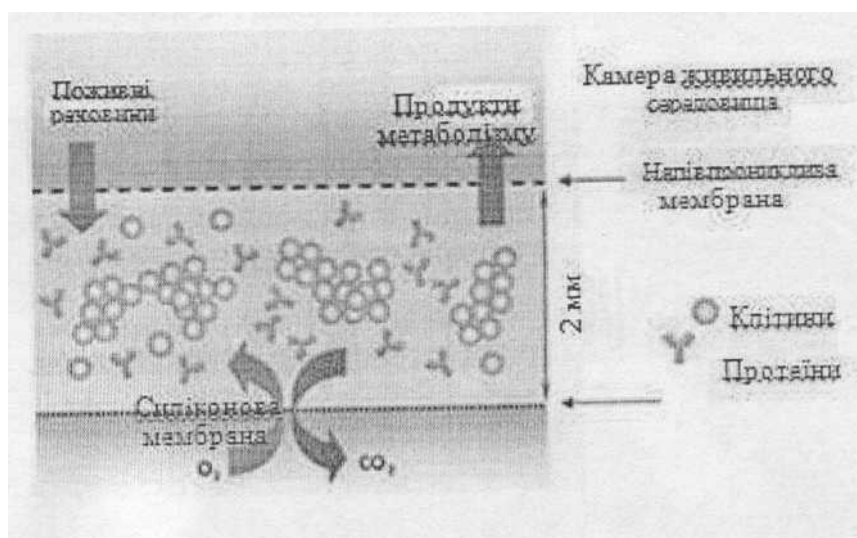


Рисунок 4. Схема роботи двокамерного біореактора

Лабораторну і пілотну ОФА (до 50 л) на платформах Appliflex, що гойдаються, випускає також компанія Applicon (Рисунок 5).

На Рисунку 6. показано одноразовий мішок FlexBoy. Мішки створено для одержання, зберігання і транспортування біофармацевтичних розчинів, проміжних продуктів і великих партій готових продуктів. Об'єм мішків — від 50 мл до 50 л.

Більші партії розчинів (100-1 000 л) готують у мішках Flexel 3D (Рисунок 7), які встановлюють у каркаси типу Palettank (Рисунок 8).

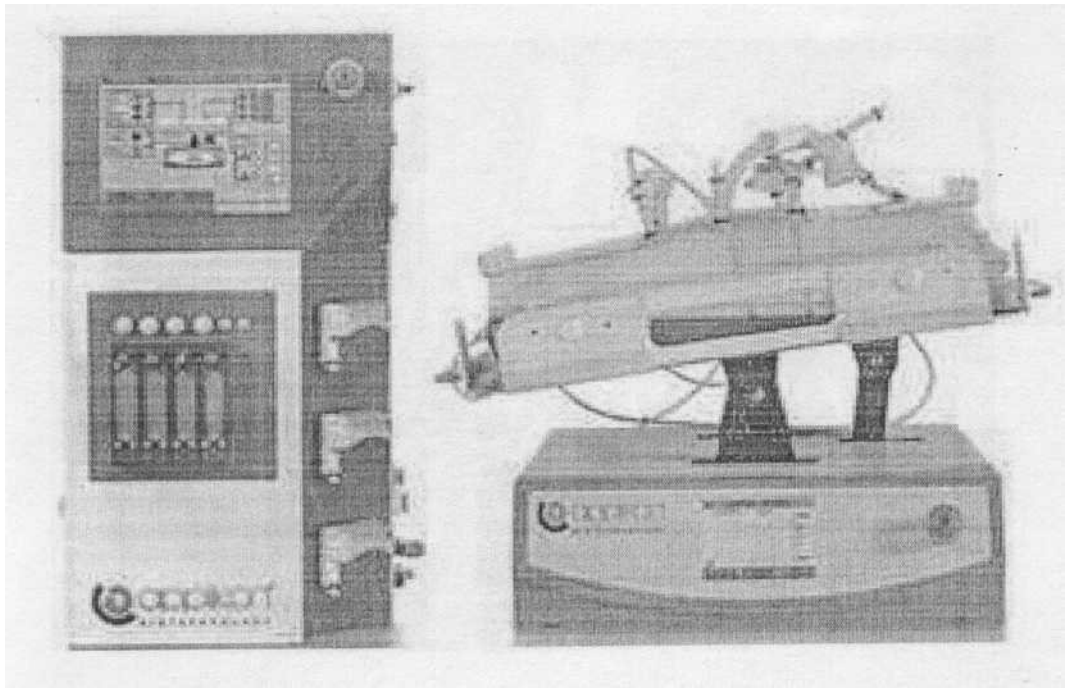


Рисунок 5. Лабораторна ОФА компанії Applison

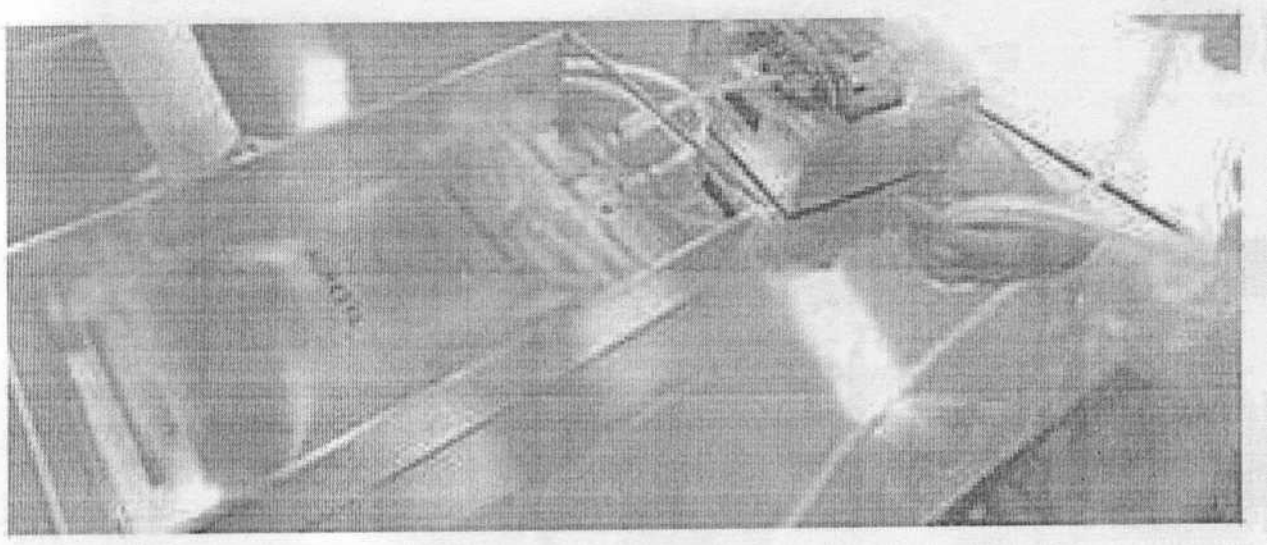


Рисунок 6. Одноразовий мішок FlexBoy

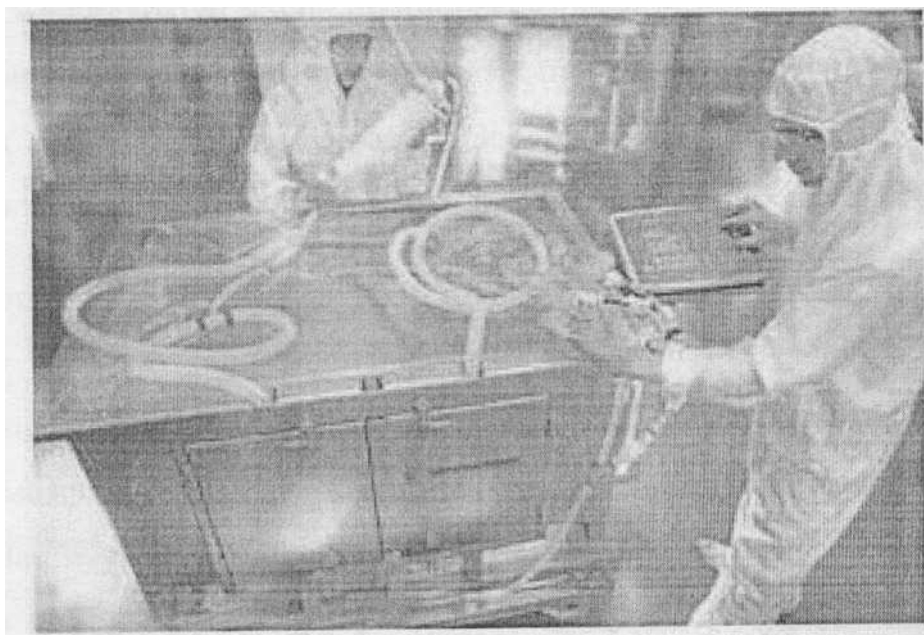


Рисунок 7. Одноразовий мішок Flexel 3D

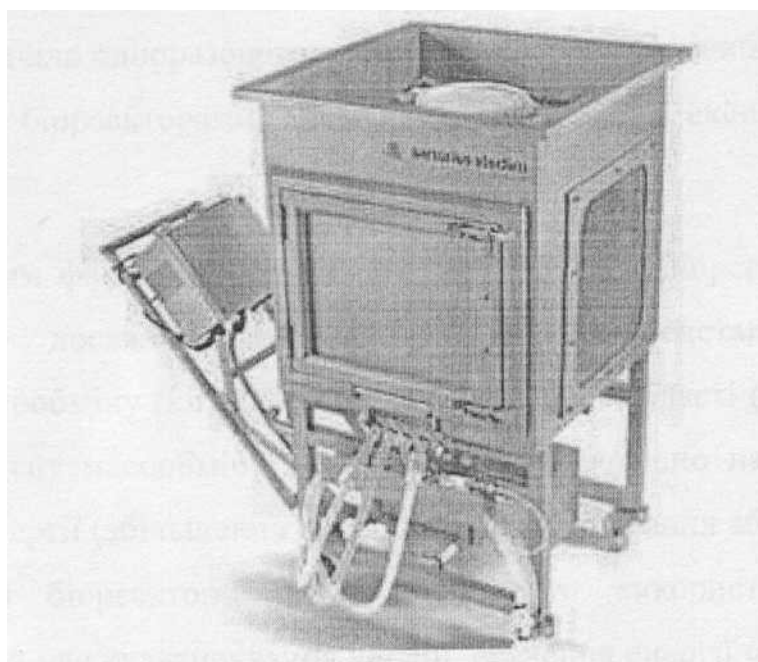


Рисунок 8. Каркас Palletank для мішків

1.3 Переваги та недоліки Single-use біореакторів

У порівнянні зі звичайними системами біореактора, розчин для одноразового використання має деякі переваги. Застосування технологій одноразового використання зменшує потреби в очищенні та стерилізації.

Деякі оцінки показують економію витрат більше ніж на 60% у системах одноразового використання порівняно з біореакторами з нержавіючої сталі з основним фондом. У фармацевтичному виробництві складні процедури кваліфікації та валідації можуть бути спрощені і, нарешті, призведуть до значного зниження витрат [7]. Застосування біореакторів одноразового використання знижує ризик перехресного забруднення та підвищує безпеку біологічних та технологічних процесів. Одноразові застосування особливо підходять для будь-якого виду біофармацевтичного препарату,

Біореактори для одноразового використання містять менше деталей порівняно зі звичайними біореакторами, тому початкові та експлуатаційні витрати зменшуються.

Обмежуючим фактором для використання деяких біореакторів одноразового використання є досяжний кисневий перенос, представлений конкретним коефіцієнтом масообміну (кл) для конкретної фазової області (а), в результаті чого об'ємний коефіцієнт масообміну кисню (кЛа). Теоретично на це може вплинути більший вклад енергії (збільшення швидкості перемішування або частоти гойдання). Однак, оскільки біореактори для одноразового використання в основному використовуються для культивування клітин, введення енергії обмежено делікатною природою клітин. Більш високий вхід енергії призводить до збільшення зусиль зсуву, що призводить до ризику пошкодження клітин. [8] Біореактори для одноразового використання зараз доступні об'ємом близько 1000 л; ось чому масштаб обмежений порівняно зі звичайними біореакторами. Однак декілька постачальників зараз постачають агрегати в масштабі 2 000 літрів, а деякі постачальники (Sartorius, Xcellerex, Thermo Scientific HyClone та PBS Biotech)

забезпечують сімейство біореакторів для одноразового використання від верхової до повномасштабної продукції. Існують три виклики для швидшого та більшого прийняття біореактора для одноразового використання 1) більш високі якості та дешевші одноразові пакети та контейнери; 2) більш багаторазові та одноразові датчики та зонди, які можуть забезпечити високоякісну аналітику, включаючи точки даних про рівень клітинної культури в режимі реального часу, і 3) сімейство біореакторів від лабораторії до виробництва, що має повний масштаб біопроцесу. Постачальники працюють над тим, щоб поліпшити матеріали для пластикових пакетів та продуктивність, а також розробити більш широкий спектр датчиків та зондів, які забезпечують вченим більш глибоке розуміння щільності, якості та інших показників клітин, необхідних для підвищення врожайності та ефективності продукту. Нові перфузійні пристрої також стають популярними для деяких застосувань для клітинної культури.

1.4 Екологічні чинники

Екологічні аспекти біореакторів одноразового використання важливо враховувати через кількість використовуваного одноразового матеріалу порівняно зі звичайними біореакторами. Повної оцінки життєвого циклу, що порівнює біореактори одноразового використання та звичайні біореактори, не існує, проте багато екологічних причин підтримують концепцію біореакторів одноразового використання. Для повної оцінки життєвого циклу необхідно враховувати не тільки виробництво, але й багаторазове використання. Навіть основна частина біореактора одноразового використання не є одноразовим, але буде постійно використовуватися. Пластиковий пакет, який використовується замість посудини для культури, є одноразовим, як і всі інтегровані підрозділи, такі як датчики, трубки та мішалки. Мішок і всі його частини виготовляються в основному з пластмас, які отримують з нафти. Сучасні концепції переробки в основному зосереджені на спалюванні, щоб відновити енергію, що виходить з нафти, як тепло та електроенергія. Більшість нафти все одно спалиться в електростанціях чи автомобілях (необхідне цитування).

нержавіючої сталі або скла потрібно більше енергії, ніж виготовлення пластикових пакетів. Використовуючи звичайні біореактори, посудину для культури потрібно очищати та стерилізувати після кожного бродіння. Для очищення потрібна велика кількість води, крім кислот, лугу та миючих засобів. Стерилізація парою при 121 градусах С та тиску 1 бар вимагає великих кількостей енергії та великої кількості дистильованої води. Дистильована вода з точки зору фармацевтичного граду називається водою для ін'єкцій, яку потрібно приготувати, витрачаючи також велику кількість енергії. Порівняння оцінки життєвого циклу звичайних біореакторів одноразового використання виглядає набагато сприятливішим для біореакторів одноразового використання, як очікувалося раніше. Згідно з доповіддю А. Сінклера та ін. [9] Біореактори одноразового використання допоможуть заощадити 30% електричної енергії для роботи, 62% енергоресурсів для виробництва системи, 87% води та нарешті 95% миючих засобів, все порівняно зі звичайними біореакторами.

1.5 Мета і задачі досліджень

На основі проведеного аналізу single-use біореактора необхідно вдосконалювати та створювати нові конструкції які володіють перевагами перед аналогами.

Мета досліджень: спроектувати конструкцію single-use біореактора з інноваційним перемішуючим пристроєм.

Задачі дослідження:

1. Розробити конструкцію single-use біореактора та перемішуючого пристрою
2. Провести моделювання гідродинаміки біореактора із розробленим перемішуючим пристроєм в середовищі ANSYS.
3. Провести експериментальні дослідження з використанням розробленої мішалки.
4. Провести необхідні технологічні та конструкційні розрахунки, що підтверджують надійність конструкції апарата.
5. Підтвердити статичну міцність та стійкість розробленого апарата в середовищі Solid Works.
6. Розробити start-up проект для серійного виробництва запропонованої конструкції апарата.

2 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

Цільовим продуктом є інтерферон α -2. До інтерферону α -2 людини належать два алельні варіанти: інтерферон α -2b та інтерферон α -2a, які відрізняються в області коду однією нуклеотидною заміною в позиції 137 (2a: A, 2b: G), що призводить до амінокислотної заміни (2a: Lys, 2b: Arg) [25]. Виробництво інтерферону α -2 здійснюється шляхом біосинтезу штамом *Escherichia coli*, у який вбудовано ген інтерферону людини. Вектором для трансформації бактеріального геному є плазміда. Процес виготовлення й очищення інтерферону в плазмідній технології складається з таких стадій: формування клітинної біомаси, її дезінтеграція, розчинення «тілець включення» шляхом денатурації білкових структур за допомогою сечовини або гуанідинхлориду, ренатурація денатурованих молекул інтерферону, очищення.

Рекомбінантна плазміда рТТКм містить вставку повнорозмірного гена лейкоцитарного інтерферону α -2b людини і ген Kan (аміноглікозид фосфотрансфераза). Синтез цільового гена регулюється триптофановим промотором. Плазміда рЕТ24 виготовлена на основі експресуючого вектора рЕТ24a ("Novagen"), транскрипція структурного гена в якому регулюється промотором Іас-операона. Рекомбінантна плазміда рЕТ24, містить ген резистентності до канаміцину Kan і послідовність, що кодує T7 термінатор транскрипції. Компетентні клітини за стандартною методикою отримують з використанням CaCl_2 . Клітини, трансформовані відповідно рекомбінантними плазмідами рТТКм і рЕТ24, висівають газonom на чашки Петрі з агаризованим середовищем LB, яке містить необхідні антибіотики. Ізольовані клони-трансформанти використовують для отримання інокулята, який вирощують при температурі 30°C протягом 16-18 годин.

Штам-продуцент *E.coli* BLR-IFN/pET24 вирощують у ферментері ФР-2 на стерильних поживних середовищах LB (0,5% дріжджового екстракту, Merck, 1,5% триптонної води, Merck, 0,5% г NaCl, Merck), ТВ (10% дріжджовий екстракт, Merck, 10% пептон, Merck, 5мМ гліцерин, Merck, 72 мМ Кг НР04, Merck, 17 мМ КН2Р04, Merck) №3 (10% дріжджового екстракту, Merck, 10% гідролізат казеїну, Merck, 5мМ

гліцерин, 1 мМ $MgSO_4$, 90 мкМ $CaCl_2$), амінопептид (Самсон-Мед, Росія). Посівний матеріал у співвідношенні 1:50 вносять в свіже живильне середовище LB з відповідними антибіотиками. Ферментацію проводять при температурі 37°C. Час накопичення біомаси складає близько 24 годин в умовах інтенсивної аерації при перемішуванні (600 об/хв). Динаміку росту бактеріальної культури визначають методом вимірювання оптичної щільності відібраних аліквот протягом культивування через кожну годину. По досягненню необхідної оптичної густини проводять індукцію цільового гену. Синтез гена рекомбінантного ІФН α -2b індукують різними концентраціями ізопропіл- β -D-тіогалактопіранозиду (ІПТГ) від 0,1мМ до 1 мМ. В якості хімічного індуктору механізму біосинтезу рекомбінантного білка в даній технології в культуральне середовище додають індуктор – ізопропіл- β -D-тіогалактопіранозид (ІПТГ) до кінцевої концентрації 1 мМ. По закінченню процесу ферментації клітинну біомасу збирають центрифугуванням при 11000 об/хв протягом 15 хвилин у центрифугі Ц-5.

Лізис клітин-продуцентів проводять обробкою лізоцимом і ДНК-азою у присутності іонів Mg^{2+} . Тільця включення збирають центрифугуванням при 11000 об/хв протягом 25 хвилин.

Схеми очищення тілець включення рекомбінантного ІФН α -2b з різних продуцентів BLIFN/pTTKm і BLR-IFN/pET24 мають відмінності. Тільця включення α 2b-IFN / pTTKm оброблюють серією відмивочних розчинів, що мають у своєму складі: детергенти (третон X-100, твін-20), сечовину і ізопропанол. Розчинення тілець включення проводять в розчині: 6 М гуанідин, 10 мМ дитіотреїтолу, 20 мМ Тріс-НСl, рН-8,0. Для тілець включення α 2b-IFN/pET24а була розроблена схема очищення відмивочними розчинами, що містять: детергент (дезоксихолат натрію), ЕДТА. Розчин для розчинення тілець включення містить 8 М сечовину, 20 мМ Тріс-НСl, рН-8,0, 10 мМ ДТТ, 1 мМ ЕДТА. Рефолдинг проводили в буфері наступного складу: 20 мМ Тріс-НСl, рН-8,0, 70 мМ NaCl, 0,1% Тритон X-100, 0,1% твін-20, 5 мМ ДТТ.

Хроматографічну очистку ІФН зазвичай здійснюють в три стадії. Отриманий ренатурований ІФН на першому етапі піддають очищенню за допомогою сорбенту

CM - Toyopearl-650M. На другій стадії хроматографічної очистки розчин ІФН наносять на сорбент DEAE - Toyopearl-650M. Очистку мономерної форми ІФН від залишків полімерних форм ІФН проводять гель-фільтрацією на смолі типу TSK-гель «Toyopearl» HW-55.

Антивірусну активність очищеного рекомбінантного ІФН а-2b оцінюють за пригніченням цитопатичної дії (ЦПД) тест-вірусу - вірусу везикулярного стоматиту (ВВС, штам Індіана, Депозитарій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України).

У 96-лункові планшети зі сформованим моношаром клітин L929 вносять послідовно два рази розведені зразки і зразки міжнародного стандарту ІФН людини. Через 24 години клітини інфікували ВВС в дозі 100 ТЦД₅₀, залишаючи лунки для контролю вірусу (необроблені клітини, інфіковані ВВС) і для контролю клітин (необроблені клітини, неінфіковані ВВС), Планшети культивують при 37°C протягом 24 год в насиченій Н₂O атмосфері з постійним рівнем CO₂ (5%). Отримані результати беруть до уваги тільки за умови, якщо в контрольних лунках цитодеструктивних змін не було, а в контролі вірусу спостерігають повну деструкцію клітин.

Облік кількості живих клітин проводять після їх забарвлення кристалічним фіолетовим. Для цього з лунок видаляють надосадову рідину, а до клітин на 15 хв вносять 0,2% розчин барвника Crystal Violet в 2% етанолі у змішувачі 3-6. Барвник видаляють, а пофарбований моношар клітин промивали водою.

Титром ІФН вважають значення, зворотне максимальному розведенню зразка, що забезпечує захист 50% клітин від ЦПД вірусу. Титр ІФН виражали в $\log_2(\text{розведення})-1$, кількісно біологічну активність визначають, порівнюючи активність досліджуваного розчину і міжнародного стандарту ІФН [24].

Після рефолдінгу розчин інтерферону передається на висушування у сушарку гісевдо зрізженого шару Сні-10.

Готовий продукт передається на фасування та пакування.

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Мета та задачі досліджень

Основною задачею, яка ставилась перед експериментальною частиною цього магістерського проекту стала візуалізація потоків рідини у середовищі що переміщується з використання розробленої конструкції перемішуючого пристрою. Наступним завданням було порівняння отриманих результатів з результатами експериментів з використанням стандартної лопатевої мішалки для single-use біореакторів. Таким чином результати цих експериментів дали б змогу підтвердити або спростувати ефективність розробленого пристрою, а відповідно й внести можливі корективи в конструкцію перемішуючого пристрою.

Метою досліджень стала можливість розробити дієвий перемішуючий пристрій та перспектива його застосування у промисловому культивуванні мікроорганізмів.

3.2 Опис експериментальної установки

Підбір експериментальної установки вимагав виконання ряду умов, серед яких були; об'єм, геометрична подібність до реального апарата, простота в застосуванні, доступність. Процес збору експериментальної установки складався з декількох етапів, а саме, проектування 3D моделі турбінної мішалки закритого типу удосконаленої конструкції з її подальшим виготовленням на 3D принтері. Наступним етапом став підбір культурального середовища, яке б дозволяло спостерігати за результатами дослідів, мало прозору структуру та невисоку вартість, результат впав на звичайну воду кімнатної температури з використанням контрасту. Роль контрасту виконав гліцерин пофарбований харчовим барвником синього кольору. Для отримання необхідного візуального результату який можна було б з легкістю проаналізувати, ємністю, що імітувала біореактор стала скляна, прозора, циліндрична посудина на діаметром 100 мм та ємністю 3 літри. Для отримання максимально промовистих та чітких результатів експерименту була використана

електрична установка з варіатором, який дозволяв встановлювати та контролювати частоту обертів мішалки, сама ж мішалка закріплювалась на кінці вала, під'єданого до варіатора. Варто також зазначити, що конструкція експериментальної установки дозволяла переміщувати вал вздовж своєї осі, цим самим змінюючи глибину розміщення мішалки у посудині. На (Рисунках 9-10) показані основні елементи експериментальної установки.

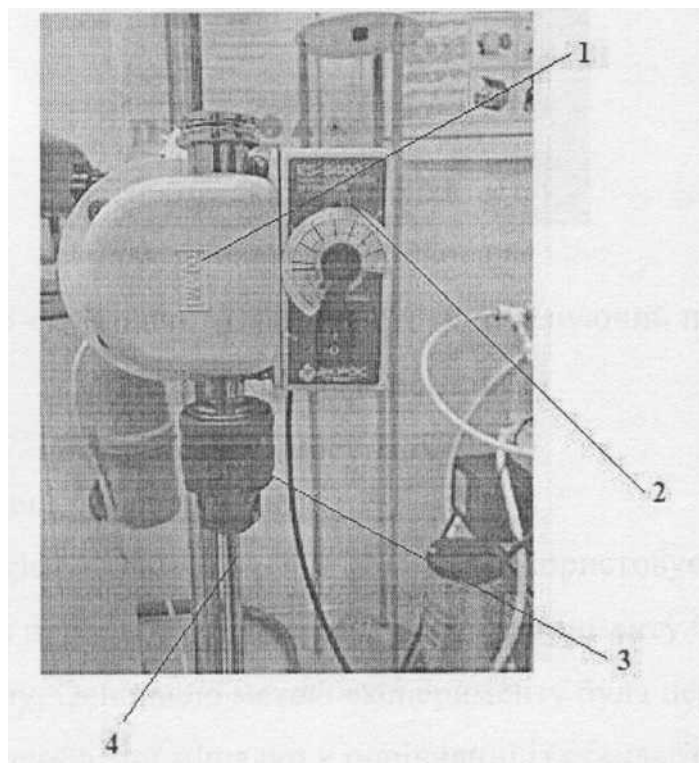


Рисунок 9. 1-електродвигун, 2-варіатор обертів, 3-затискач валу, 4-вал

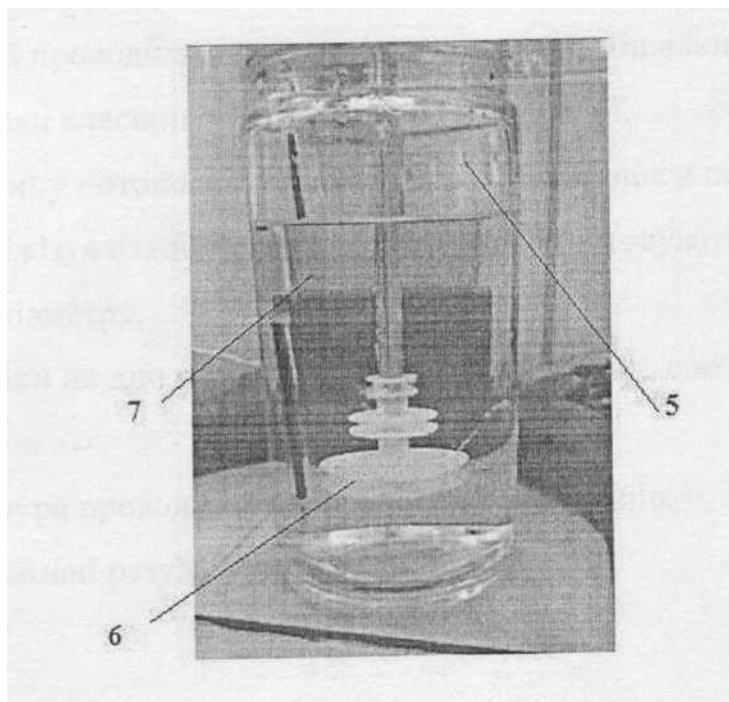


Рисунок 10. 5-скляна посудина па 3л, 6-перемішувач, 7-вода

3.3 Методика проведення експерименту

Відомо, що у Single-use біореакторах зазвичай використовується лопатева мішалка, саме тому для проведення порівняльного експерименту була вибрана мішалка саме цього типу. Основною метою експерименту була перевірка ефективності зразка розробленої мішалки у порівнянні із стандартною мішалкою.

1. Раніше обрану та підготовлену ємність об'ємом 3 л па 75% наповнюємо водою.
2. Беремо гліцерин та зафарбовуємо його у синій колір за допомогою харчової барвника.
3. Набираємо зафарбований гліцерин у мірну піпетку.
4. Піпетка з гліцерином занурюється на дно посудини з водою.
5. Вмикаємо установку на малих обертах та спостерігаємо як мішалка почала рух у водному середовищі.
6. Поступово починаємо випускати зафарбований гліцерин у середовище що перемішується.
7. Спостерігаємо за потоками, що утворились.

8. Дані маніпуляції проводимо спочатку для лопатевої мішалки, а потім для турбінної мішалки власноруч розробленої конструкції.
9. Для перевірки типу потоків які виникають під час процесу перемішування, а саме додаткової візуалізації процесу будемо використовувати 2 пластмасові кульки одного діаметру.
10. Опускаємо кульки на дно апарата та вмикаємо мішалку, спостерігаємо за процесом.
11. Остання процедура проводиться для мішалок обох типів.
12. Аналізуємо отримані результати та робимо висновки.

3.4 Аналіз результатів експериментів

У загальному було проведено 6 експериментів із застосуванням двох типів мішалок та різною візуалізацією потоків рідин що утворювались під час процесу перемішування. Наочно побачити результати експериментів можна у презентації. Для візуалізації потоків використовувався фарбований гліцерин. Завдяки тому, що гліцерин набагато густіший за воду, неозброєним оком можна було побачити як запропонована турбінна мішалка завдяки отвору в своїй основі засмоктує рідину піднімає її по порожнистому каналу за розкидає через свій другий ярус, вся рідина, що не встигла розкидатись через другий ярус мішалки продовжує свій рух по порожнистому каналу та розкидається через третій ярус. Важливу роль у цьому процесі відіграли перпендикулярні до основи диска пластинки, після підняття рідини через канал і початку розкидання у сторони вони розбивали потоки що утворювались тим самим гомогенізуючи середовище. Дана мішалка створює переважно радіальні потоки що піднімаються знизу до верху, а потім назад за траєкторією вісімки. Рідина засмоктувалась та викидалась кожним з ярусів мішалки. Коли застосовувалась лопатева мішалка можна було спостерігати як гліцерин утворював закритий цикл нижче рівня мішалки, тобто доцільно сказати, що мішалка створює колові потоки нижче свого рівня і мало впливає на весь об'єм середовища.

Наступна візуалізація проводилась з використанням різнокольорових пластмасових кульок. Після початку роботи мішалки на відео, що у презентації ми яскраво можемо бачити цілковиту перевагу запропонованої мішалки над лопатевою мішалкою, що найчастіше використовується у single-use біореактора. Під час використання стандартної мішалки жодна з кульок не піднялась навіть на рівень занурення самої мішалки, всі потоки були сконцентровані під нею і майже ніяк не впливали на решту середовища. У випадку ж використання запропонованої мішалки кульки здійснювали рух чимось подібний до вертикальної вісімки. Кульки постійно піднімались та опускались по всьому об'єму експериментальної установки.

3.5 Висновки

Після проведення експериментальних досліджень вдалось підтвердити ефективність розробленого перемішуючого пристрою. Візуалізація потоків дала змогу побачити напрямки руху рідини, встановити що запропонована конструкція перемішуючого пристрою створює комплексні потоки, в першу чергу - це радіальні потоки, але за рахунок порожнистого валу це також колові потоки на рівні кожної із секцій мішалки. Результати експериментів показали також деякі недоліки конструкції які буде усунуто для кінцевого патентування перемішуючого пристрою.

За результатами експериментальних даних та даних комп'ютерного моделювання опубліковано статтю у науковому видавництві. Розроблена конструкція має всі шанси у майбутньому стати основним робочим інструментом для single-use біореактора.

4 КОМП'ЮТЕРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСУ ПЕРЕМІШУВАННЯ З ВИКОРИСТАННЯ МІШАЛКИ РОЗРОБЛЕНОЇ КОНСТРУКЦІЇ

До основних фізичних процесів, ідо відбуваються під час культивування мікроорганізмів в біореакторі відносять гідродинаміку, теплообмін і масообмін. Для встановлення оптимальних параметрів культивування необхідно враховувати особливості цих процесів з певними обмеженнями. До основних лімітуючих параметрів культивування відносять: рівень рН, градієнт температур, концентрація поживних речовин і метаболітів, напруження зсуву в рідині та умови асептики. Для забезпечення оптимальних умов культивування сучасні біореактори обладнанні гомогенізуючими пристроями для введення енергії в рідину, які умовно поділяють на гідравлічні, пневматичні і механічні. Правильний підбір механічного перемішуючого пристрою є запорукою ефективної роботи біореактора. Швидкість гомогенізації рідкого культурального середовища напряму залежить, як від фізичних властивостей самої рідини, так і від розподілу векторів швидкості по робочому об'єму, що створюються мішалкою. Наразі існує велика кількість різноманітних конструкцій механічних перемішуючих пристроїв, однак кожна з них володіє як перевагами так і недоліками. Тому створення нових конструкцій, які дозволять ефективно і швидко проводити процес гомогенізації є актуальною задачею. Дане дослідження присвячене вивченню гідродинаміки при роботі закритої турбінної мішалки спеціальної конструкції. Тому *об'єктом дослідження* є гідродинаміка потоків при роботі триярусної турбінної мішалки, а *метою дослідження* є моделювання процесу перемішування в середовищі ANSYS та порівняння його з реальним експериментом. Вивчення особливостей гідродинаміки під час роботи мішалки запропонованої конструкції дасть можливість встановити оптимальні параметри і оцінити можливість використання таких перемішуючих пристроїв в масообмінних апаратах.

4.1 Методика проведення досліджень

Опираючись на досвід роботи з механічними перемішувачами та виходячи інженерних міркувань, була запропонована конструкція триярусної закритої турбінної мішалки, яка була побудована в середовищі SolidWorks (Рисунку 11).

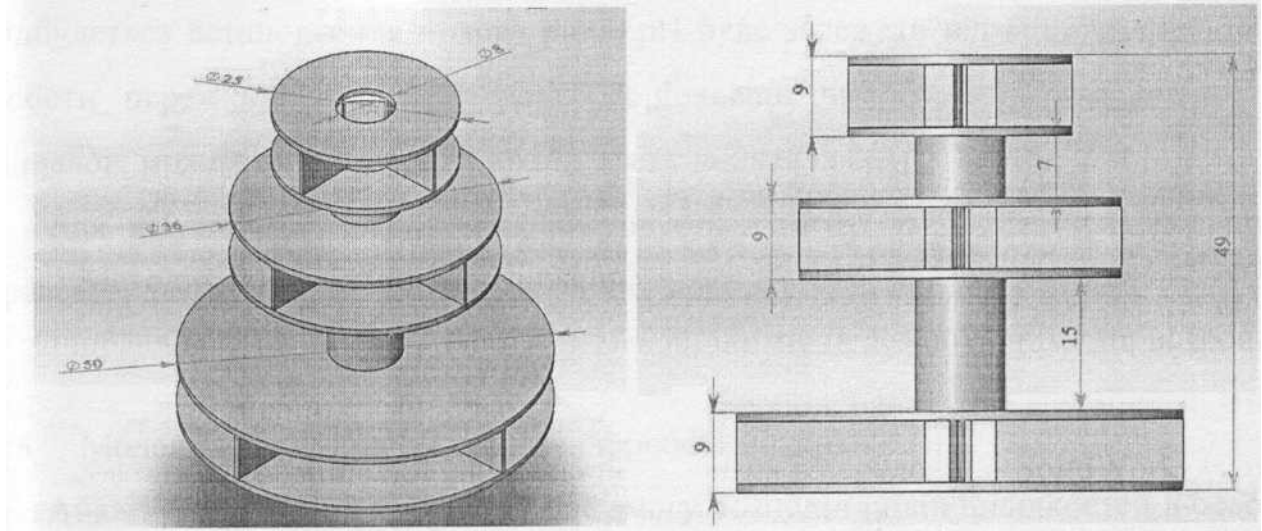


Рисунок 11. Конструкція триярусної закритої турбінної мішалки

Використовуючи методику моделювання гідродинаміки, яка описана в наших публікаціях, що основана на використанні методу кінцевих елементів з використанням k- ϵ моделі турбулентності, було проведено моделювання в пакеті ANSYS в модулі CFX. Частота обертів мішалки - 3 об/с.

4.2 Методика експерименту по встановленню ефективності гомогенізації при перемішуванні триярусною закритою турбінною мішалкою

Для перевірки ефективності гомогенізації та візуалізації потоків, що виникають під час роботи запропонованої конструкції триярусної турбіни було надруковано її на 3D принтері. Всі габаритні розміри відповідають тим, що були використані під час моделювання. Для встановлення швидкості гомогенізації використовувався метод вирівнювання концентрацій по всьому об'єму. Для цього в модельну рідину, яка підлягає перемішуванню додавали 1мл оцтової кислоти, при цьому постійно

проводиться контроль рівня рН. Як відомо, у води він близький до нейтрального значення $\text{pH}=7$, під час додавання кислоти рівень рН розчину зміщується в сторону менших значень (кислотне середовище). Зрозуміло, що після додавання декількох крапель кислоти до об'єму води вирівнювання рН відбувається не миттєво, оскільки необхідно, щоб відбулися дифузійні процеси. Час за який відбудеться встановлення нового рівня рН буде залежати від конструкції і режиму роботи перемішуючого пристрою. Порівнявши час гомогенізації різних типів мішалок, можна стверджувати про їх ефективність роботи.

Для візуалізації потоків використовується метод із додаванням кольорового трассера, що поступово забарвлює рідину відповідно за лініями потоку.

4.3 Моделювання гідродинаміки при роботі мішалки

Аналіз одержаних результатів дає змогу розподіл полів швидкостей в осьовому, тангенційному та радіальному напрямках. Максимальна швидкість потоків рідини спостерігається безпосередньо поблизу лопатей закритої турбіни і становить

0,477 м/с (Рисунок 12). Модуль швидкості за напрямком вектора найбільший в радіальному напрямі, і суттєво менший в осьовому і дотичному напрямках (Рисунок 13). Однак, слід зазначити, що внаслідок високих радіальних швидкостей всередині турбіни утворюється падіння тиску, що спричиняє виникнення ефекту ежекції. Внаслідок чого, мішалка всмоктує в себе потоки рідини в осьовому напрямку, при цьому відбувається перерозподіл векторів швидкості по всьому робочому об'єму (Рисунок 14.)

Встановлено, що описане явище значно посилюється за рахунок встановлення декількох ярусів, що позитивно характеризує дану конструкцію. Основною властивістю можна вважати саме створення підйомної сили, що може бути корисним при перемішуванні дисперсних систем таких як суспензії.

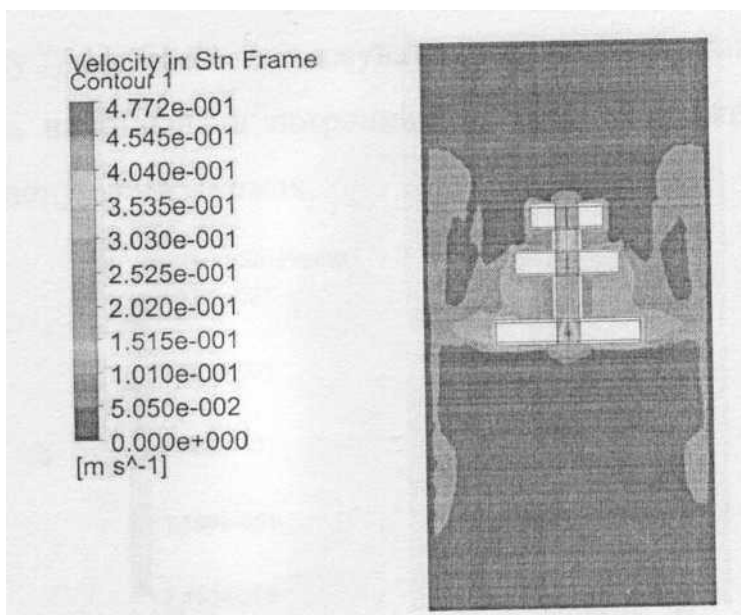


Рисунок 12. Поля швидкостей триярусної закритої турбінної мішалки отримані в середовищі ANSYS.

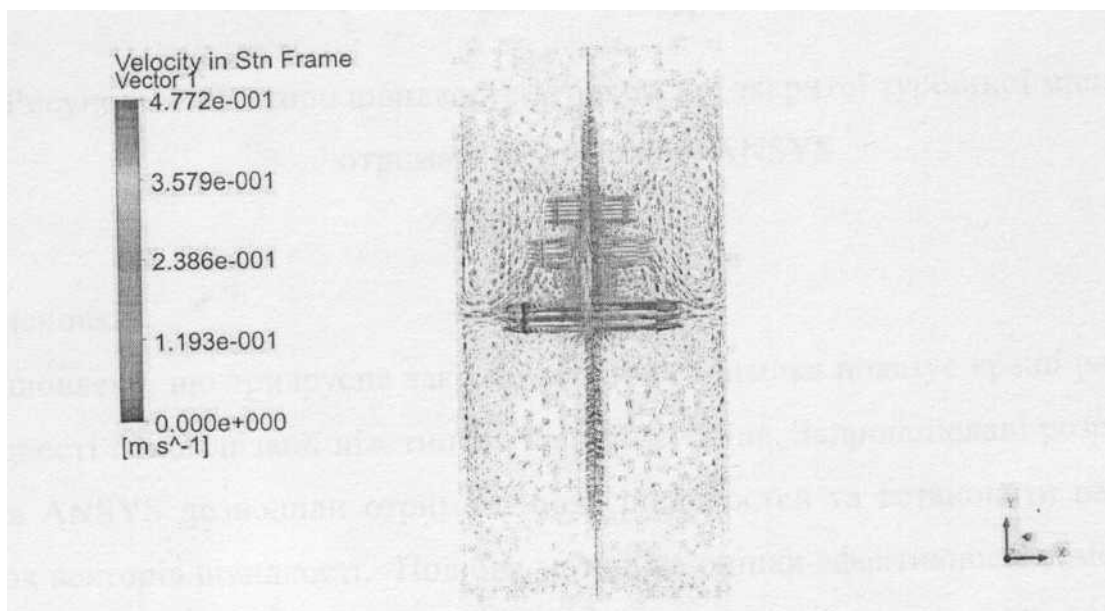


Рисунок 13. Модуль вектора швидкостей триярусної закритої турбінної мішалки отримані в середовищі ANSYS.

Виявлена особливість саме для конструкції триярусної мішалки дозволяє стверджувати, що активна робоча зона має умовно конусоподібну форму і займає значно більший об'єм в порівнянні з типовими одноярусними конструкціями (Рисунок 14).

Окремо слід зазначити, що була отримана картина напружень зсуву в рідині, які необхідно враховувати під час культивування. Оскільки високотурбулентні зони

потоків можуть пошкоджувати живі мікроорганізми, однак величина цих напружень найбільша в пограничному шарі мішалки поблизу лопатей турбіни і лежить в допустимих межах.

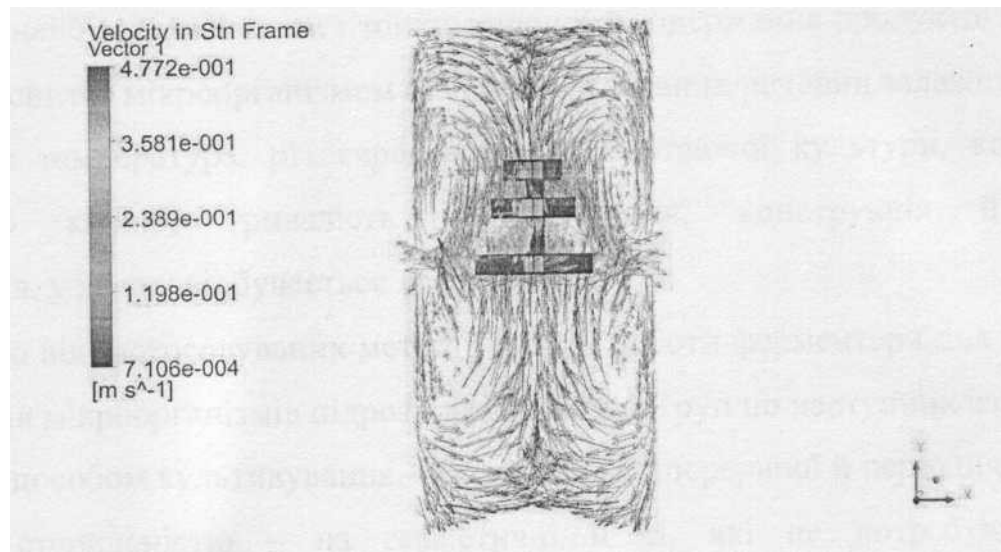


Рисунок 14. Вектори швидкостей триярусної закритої турбінної мішалки отримані в середовищі ANSYS.

4.4 Висновки

Встановлено, що триярусна закрыта турбінна мішалка показує кращі результати по швидкості гомогенізації ніж типова закрыта турбіна. Запропоновані розрахункові моделі в ANSYS дозволили отримати поля швидкостей та встановити величину і напрямки векторів швидкості. Подібна методика оцінки ефективності гомогенізації може бути використана при проектуванні нових конструкцій механічних перемішувачів.

5 ПРАКТИЧНА РЕАЛІЗАЦІЯ РОЗРОБЛЕНОЇ КОНСТРУКЦІЇ БІОРЕАКТОРА

Елибинне культивування мікроорганізмів - продуцентів біологічно активних речовин - є найбільш складним і тонким процесом одержання продуктів мікробного синтезу. Біосинтез мікроорганізмом біологічно активних речовин залежить від таких факторів як температура, рН середовища й зростаючої культури, концентрація розчиненого кисню, тривалість культивування, конструкція й матеріал устаткування, у якому відбувається процес, та ін.

Залежно від застосовуваних методів оцінки роботи ферментери для глибинного вирощування мікроорганізмів підрозділяють на ряд груп по наступних ознаках:

- за способом культивування - на апарати безперервної й періодичної дії;
- за стерильністю - на герметичні й ті, які не потребують строгої герметичності;
- за конструктивними ознаками - на ферментери з дифуззором і турбіною, з обертаючими аераторами, з механічними мішалками, із зовнішнім циркуляційним контуром, колонні ферментатори, з ежекційною системою аерації;
- за способом введення енергії й організації перемішування й аерації - на апарати з підведенням енергії до газової фази, до рідкої фази й комбінованої.

У мікробіологічній промисловості практично всі процеси культивування продуцентів біологічно активних речовин, за винятком дріжджів для одержання БВК на парафінах, гідролізатах і сульфідних лугах, проводяться періодичним способом у стерильних умовах [1].

Апарати з механічним перемішуванням - найпоширеніша конструкція в сучасній мікробіологічній промисловості. Перспективи подальшого застосування апаратів з механічним перемішуванням пов'язані з високою швидкістю масопередачі кисню й значною економією потужності.

Для культивування був обраний вертикальний одноразовий апарат що не

потребує попередньої стерилізації, обладнаний сорочкою для забезпечення потрібних умов а також барботером для аерації та мішалкою для забезпечення однорідного розподілу поживних компонентів та повітря в культуральній рідині. Конструкція ферментеру призначена для біосинтезу рекомбінантного α -2 інтерферону на основі *Escherichia coli*, у який вбудовано ген інтерферону людини.

Апарат такої конструкції можна використовувати для вирощування, за потребою, широкого спектру мікроорганізмів (включаючи умовно патогенні) та грибів, як аеробних, так і анаеробних, оскільки він є класичним ферментером, в якому передбачена, за необхідності, подача повітря барботером для аерації середовища культивування та інтенсифікація перемішування з диспергуванням повітря перемішуючим пристроєм. Номінальний об'єм ферментера, що розробляється складає 0.0295 м^3 [1,2].

Технологічний процес, що протікає в обраному ферментері, складається з наступних операцій:

- 1) підготовка ферментера і перевірка його на герметичність;
- 2) завантаження поживним середовищем і культурою;
- 3) процес культивування.

Підготовка ферментера і перевірка його на герметичність. Ферментер ретельно оглядають. Після усунення помічених дефектів ферментер заповнюють водою до рівня занурення барботера і протягом декількох хвилин пропускають повітря, перевіряючи чистоту отворів променів барботера. Паралельно перевіряють індивідуальний фільтр, систему подачі повітря і піногасника.

Ферментер, посівну лінію, фільтр із повітряними комунікаціями, бак з піногасником перевіряють на герметичність за допомогою мильного розчину і гідравлічного тиску.

Стерилізація ферментера вибраного типу проводити не потрібно, що являється однією з основних його переваг. Компанія виробник «SerCell» гарантує герметичність якості та стерильність своєї продукції. ферментери цього типу надходять на виробництво вже стерильними і запакованими у стерильні оболонки.

При дотриманні технічних умов експлуатації зараження ферментера чужорідними організмами виключене.

Завантаження поживним середовищем і культурою. Виробниче ПС засівають посівним матеріалом з посівного апарата при температурі середовища 37°C [2].

Процес ферментації. Процес повинен проходити при наступних умовах:

- 1) температура середовища 37°C (регулюється шляхом подачі води в сорочку апарата);
- 2) надлишковий тиск у процесі росту повинне бути 0.1 МПа;
- 3) інтенсивна аерація середовища стерильним повітрям з температурою 37°C;
- 4) тривалість культивування 24 години;
- 5) перемішування 600 об/хв;
- 6) присутність сторонньої мікрофлори не допускається [3].

5.1 Опис і обґрунтування обраної конструкції

Необхідною умовою процесу біосинтезу є забезпечення перемішування та гомогенізації середовища. За методом досягнення відповідного режиму перемішування розрізняють:

- ферментери з механічним перемішуючим пристроєм;
- ферментери з пневматичним перемішуючим принципом.

Недоліком ферментерів з пневматичним перемішуючим пристроєм є більш -нзька порівняно з ферментером з механічним перемішуючим пристроєм величина побочого об'єму, особливо при роботі з середовищами, які дуже піняться. Вони застосовуються, переважно, у випадках, коли культура мікроорганізму не потребує інтенсивного перемішування і її в'язкість невелика.

Апарати з механічним перемішуванням - найпоширеніша конструкція в сучасній мікробіологічній промисловості. Вони мають механічну мішалку, що складається із центрального валу й лопатей різної форми. Мішалка - рухомий гюбочий орган механічного перемішуючого пристрою, який здійснює

безпосередню дію на рідке середовище. В систему перемішування входять також відбивні перегородки за необхідності. Ці перегородки запобігають виникненню виру навколо обертової мішалки, переводячи круговий рух рідини у вихровий, рівномірно розподілений по всьому об'єму. Перспективи подальшого застосування апаратів з механічним перемішуванням пов'язані з високою швидкістю масообміну кисню й значною економією потужності.

Середовище LB є не надто в'язким, але об'єм апарату досить малий (0.0295 м^3). Тому у даному дипломному проекті розраховується і проектується ферментер, що має механічний перемішуючий пристрій [3].

Вибір типу ферментера залежить від характеристики сировини, яку переробляють, параметрів технологічного режиму і визначається техніко-економічними міркуваннями. Ферментер для нагрівання поживного середовища повинен відповідати наступним вимогам:

- продуктивність та інтенсивність роботи;
- мінімальні затрати енергії на перемішування й транспортування матеріалів через ферментер;
- простота керування;
- стабільність режиму і безпечність роботи;
- низька вартість виготовлення і ремонту;
- надійність в експлуатації

Ферментер з механічним перемішуючим пристроєм (Рисунок 15)

включає в себе турбінну мішалку та вал, що передає обертання від приводу до мішалки.

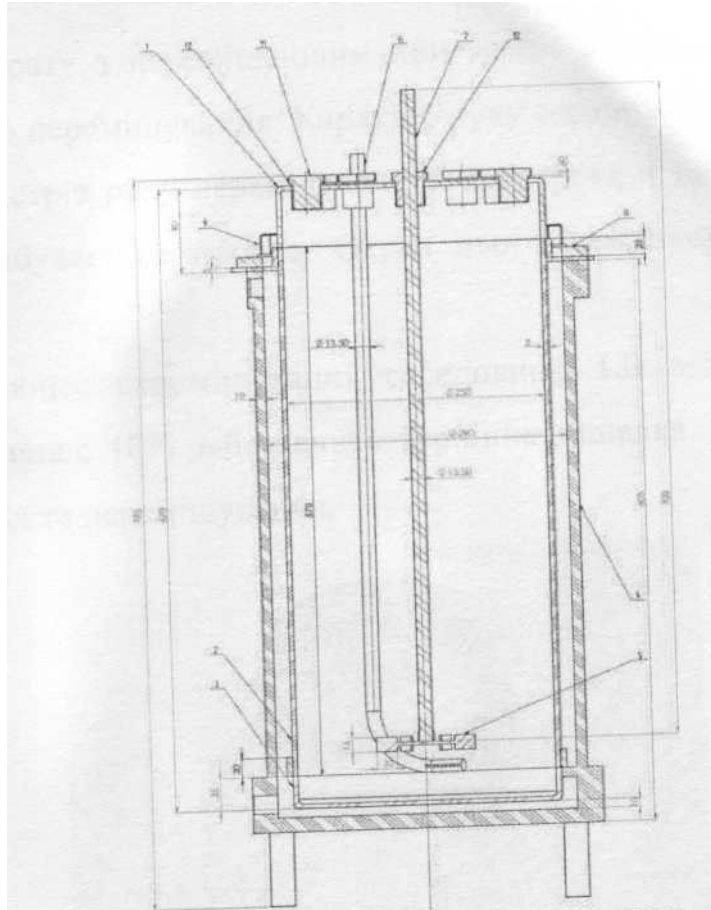


Рисунок 15. Апарат з перемішуючим пристроєм

1 - Посівний апарат з механічним перемішуючим пристроєм і барботером: 1 - кришка. 2 - корпус; 3 - днище; 4 - сорочка; 5 - мішалка; 6 - барботер; 7 - вал мішалки; 8 - шайба-фіксатор; 9 - гайки-тримачі; 10 - фіксатори; 11 заглушки, прокладки.

Ферментер випускають у вигляді окремих складальних одиниць що потім : З'єднуються. Кришка й інші технологічні одиниці йдуть окремо. Спочатку через отвір у кришці проводять вал, на кінець якого закріплюють перемішуючий пристрій (Рисунок 16). Вал опускають в корпус апарату. Апарат накривається кришкою, а в місці де через кришку проходить вал встановлюють ущільнення. Ущільнення необхідно для попередження коливань вала. Над ущільненням розташована стійка. До верхнього краю вала через муфту приєднується мотор-редуктор, що власне і забезпечує обертання валу і мішалки на ньому. Сам реактор встановлюється на опори.

При роботі апарату з перемішуючим пристроєм середовище приводиться в рух, що викликає його перемішування. Характер руху середовища залежить від конструкції та параметрів руху перемішуючого пристрою, а також від конструкції апарату в якому відбувається процес. Окрім цього важливими є і властивості середовища.

Ефективний процес перемішування середовища LB з масовим вмістом твердих частинок менше 10% забезпечить турбінна мішалка. Вона забезпечить і ефективне розчинення та перемішування.

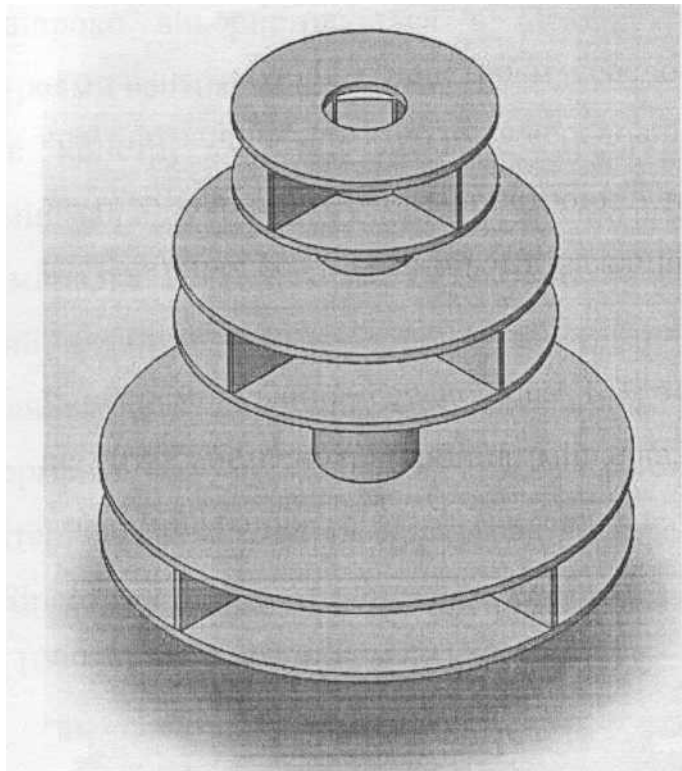


Рисунок 16. Схема розробленого перемішуючого пристрою

Ці мішалки використовують для перемішування осадів в рідинах, що містять [до 60% твердої фази (мішалки відкритого) і більше (мішалки закритого) типів, причому максимальні розміри твердих частинок до 1,5 мм для мішалок відкритого і до 2,5 мм для мішалок закритого типів.

Мішалка складається з одного або декількох (у нашому випадку 3 диски розміщені у три ряди) відцентрових коліс (турбін), укріплених на вертикальному валу.

Для приведення в рух (обертання) турбінної мішалки в реакторі використовуються приводи, де в якості рухомої сили є, головним чином, електроенергія. Існує багато різних конструкцій приводів, які встановлюються на кришці або на верхньому днищі апарату.

Введення валу таких приводів в апарат зазвичай повинно бути ущільненим, якщо є надлишок тиску або вакууму в апараті. Ущільнення валу відбувається різними методами, які залежать від тиску середовища в апараті, потрібного ступеня герметизації та інших специфічних умов, які вимагаються до того чи іншого апарату. Найбільш широко використовується в біотехнологічній апаратурі з перемішувачами пристроями вертикальні виносні

Оптимальною є конструкція, що дозволяє досягти необхідної якості перемішування при мінімальних витратах енергії в найкоротший строк. Таким пристроєм є турбінна мішалка. Цей тип мішалки є досить простим за конструкцією, довговічний і надійний, з мінімальними матеріалозатратами і енергоємністю. На кришку апарату встановлюємо виносний індивідуальний привід із двигуном постійного струму. Ферментер має рубашку, в яку подається охолоджуюча вода для підтримання в ферментері постійної температури [5, 6]. Зважаючи на всі встановлені параметри обираємо Single use біореактор німецької компанії виробника «CegCell» що відповідає EN ISO 10993-1.

5.2 Опис та новизна конструкції

Турбінна мішалка відноситься до машинобудування, зокрема до обладнання хімічної та біотехнологічної промисловості, а саме, до пристроїв гомогенізації рідких середовищ, в яких перемішувачий пристрій застосовується для створення різнонаправлених потоків.

Відома турбінна мішалка, що складається з диска певного діаметру з чотирма або більше прямокутними пластинами, диск слугує основою для кріплення пластинок(патент України № 99539 «Турбінна мішалка» МПК B01F 3/10, B01F 7/10

опубл. 10.06.2015 року). Однак, така конструкція не забезпечує інтенсивного перемішування по всьому об'єму.

Найбільш близькою за сукупністю ознак і технічним результатом до корисної моделі є турбінна мішалка закритого типу (патент України № 52307 «Турбінна мішалка» МПК B01F 7/16, B01F 7/18 опубл. 25.08.2010 року).

Мішалка містить вертикальний вал із закріпленими на ньому лопатями, розміщеними між двома співвісними з вертикальним валом кільцевими дисками.

Однак, під час процесу перемішування в апараті в залежності від швидкості обертання та фізичних властивостей середовища яке перемішується, в апараті виникають застійні зони, що у кінцевому результаті негативно впливає на продуктивність та якість всього процесу перемішування.

Недоліком цього технічного рішення є вузькі межі його застосування, до того ж через недостатній розмір самого пристрою і виникнення у результаті застійних зон та воронки, погіршується один з основних рушійних процесів культивування - розчинення кисню у культуральній рідині.

В основу заявленої корисної моделі поставлена задача удосконалення перемішуючого пристрою, шляхом прямої та безперервної подачі кисню безпосередньо у зону інтенсивного перемішування, який усуває застійні зони та підвищує коефіцієнт дифузії кисню поживним середовищем.

Сутність корисної моделі пояснюється кресленням де:

- на (Рисунку 12.) наведено мішалку у загальному вигляді;
- на (Розрізі А-А) зображено розріз мішалки.

Мішалка складається з порожнистого валу 1 та прикріплених до нього дисків 2,3,4, лопатей 5 та центральної пластини 6, вал має центральний отвір 7 та перфорований по всій довжині каналами 8. Диски 2,3,4 кріпляться у довільній

послідовності. Диски виконані з поліетилентерафталату, а вал виконаний з інертного металу.

Аеруючий перемішувач працює наступним чином: під час процесу перемішування до валу 1 компресором подається повітря, через отвори 8 воно потрапляє безпосередньо у зону перемішування та всмоктується культуральною рідиною. Диски 2,3,4, які розташовані у три ряди, за рахунок своєї конфігурації створюють турбулентні потоки та усувають застійні зони.

Заявлене технічне рішення усуває застійні зони під час процесу перемішування та сприяє швидкій гомогенізації середовища, крім того використовується як перемішувач і барботер - одночасно.

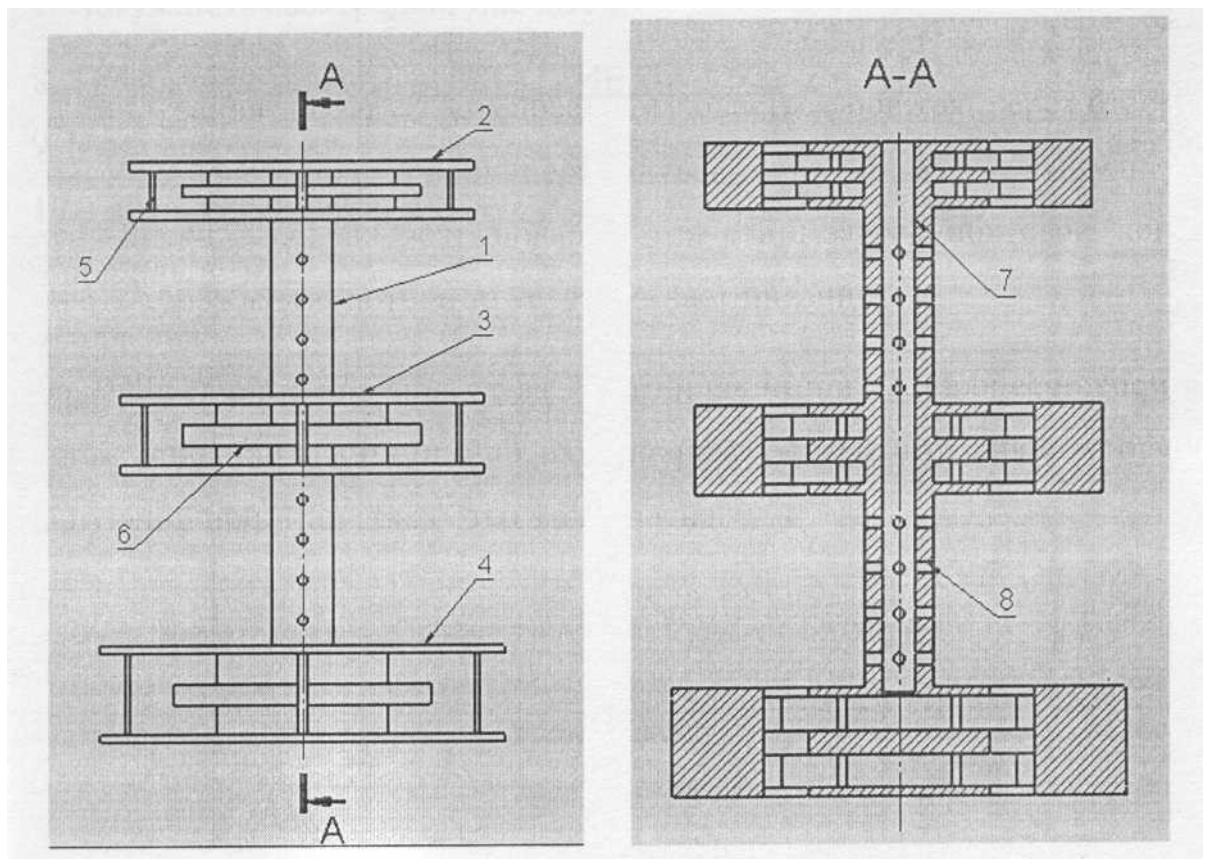


Рисунок 17. Схема турбінної мішалки

1 - вал; 2,3,4 - перемішувачі диски; 5 - лопаті; 6 - центральна лопать;
7 - центральний отвір; 8 - канали.

5.3 Технічні характеристики

1. Призначення - для приготування інтерферону.
2. Об'єм ферментера, м³ :
 - номінальний 0.0295;
 - робочий 0.0236;
3. Площа поверхні теплообміну, м² 0.132;
4. Температура робочого середовища, °C:
 - у ферментері 37;
 - в сорочці 30;
5. Тип перемішуючого пристрою — мішалка турбинного типу
6. Частота обертання мішалки, хв⁻¹ 600;
7. Потужність електродвигуна, кВт 2.5.
8. Тип електродвигуна - ПБВ 112МЕ О УЗ 600
9. Маса апарата, кг 18.46;
10. Габаритні розміри, мм.
 - ширина 350;
 - довжина 350;
 - висота 785.

5.4 Розрахунки, що підтверджують працездатність та надійність конструкції

Для використання даного апарату на виробництві та у лабораторіях ми повинні бути впевнені у всіх його показниках. Для цього проводиться ряд розрахунків та досліджень спрямованих на підтвердження технічних показників апарата. Це і буде метою даного посілу

Вихідні дані

Розрахуємо ферментер для виробництва рекомбінантного α -2 інтерферону шляхом біосинтезу штаму *Escherichia coli*.

Номінальний об'єм апарата	$V = 0.0295 \text{ м}^3$
Коефіцієнт заповнення апарата	$\varphi = 0.8$
Температура що повинна зберігатись в апараті	$t_c = 37^\circ\text{C}$
Початкова температура теплоносія(води)	$t_a' = 23^\circ\text{C}$
Кінцева температура теплоносія	$t_a'' = 30^\circ\text{C}$

Основні фізико – хімічні показники поживного середовища LB за визначальної температури – $t_c = 37^\circ\text{C}$:

В'язкість	$\mu_c = 697.76 \cdot 10^{-6} (\text{Па} \cdot \text{с})$
Теплоємність	$c_c = 3.7 (\text{кДж} / \text{кг} \cdot \text{K})$
Густина	$\rho_c = 1008 (\text{кг} / \text{м}^3)$
Теплопровідність	$\lambda_c = 0.589 (\text{Вт} / \text{м} \cdot \text{K})$

Найкращі результати виходять при вирощуванні штаму-продуценту *E.coli* на поживних середовищах LB (5г дріжджового екстракту, 10 г триптонної води, 10 г NaCl, 800 мл дистильованої води).

5.5 Конструктивний розрахунок

Робочий об'єм апарату розраховуємо за формулою:

$$V_p = V \cdot \varphi,$$

$$V_p = 0.0295 \cdot 0.8 = 0.0236 (\text{м}^3). \quad (1),$$

Було обрано Single-use біореактор згідно з ISO 10993-1 та USP класу VI приймасмо внутрішній діаметр апарату:

$$D_{\text{вн}} = 250 \text{ мм} = 0.25 \text{ м}$$

Висота корпусу $H = 600 \text{ мм} = 0.6 \text{ м}$.

Об'єм днища:

$$V_{\text{дн}} = \pi \cdot R^2 \cdot h = 3.14 \cdot 0.250^2 \cdot 0.03 = 0.0058 \text{ м}^3 \quad (2),$$

Об'єм циліндричної частини ферментера:

$$V_{\text{ц}} = V - V_{\text{дн}} = 0.0295 - 0.0058 = 0.0236 \text{ м}^3, \quad (3),$$

Висота циліндричної частини апарату:

$$H_{\text{ц}} = 0.57 \text{ м}.$$

Загальна висота апарату:

$$H_{\text{заг}} = H_{\text{ц}} + h_{\text{дн}} + h_{\text{кр}} = 0.57 + 0.035 + 0.065 = 0.670 \text{ м}. \quad (4),$$

5.6 Розрахунок перемішуючого пристрою

Для перемішування середовища обрано турбінну мішалку.

Діаметр даної мішалки визначимо за формулою:

$$d_{\text{м}} = \frac{D_{\text{вн}}}{3} = \frac{0.250}{3} = 0.083 \text{ м}. \quad (5),$$

Зі стандартного ряду обираємо мішалку діаметром $d_{\text{м}} = 0.08 \text{ м}$.

Повинні зберігатись такі основні параметри:

$$\frac{h_m}{d_m} = 0.2;$$

$$\frac{h}{d_m} = 0.4;$$

$$\xi_m = 8.4;$$

$$\frac{l}{d_m} = 0.25.$$

Висота перемішуючого пристрою:

$$h_m = \frac{d_m}{5} = 0.08 \cdot 0.2 = 0.016 \text{ м.} \quad (6),$$

Відстань до днища апарату:

$$h = d_m \cdot 0.4 = 0.08 \cdot 0.4 = 0.032 \text{ м,} \quad (7),$$

Ширина лопасті:

$$l = d_m \cdot 0.25 = 0.08 \cdot 0.25 = 0.02 \text{ м.} \quad (8),$$

Розрахуємо потужність приводу перемішуючого пристрою. Для перемішування приймаємо оптимальну кутову швидкість мішалки: $\omega = 2.5 \text{ м/с}$ [10].

Частота обертання мішалки:

$$n = \frac{\omega}{\pi \cdot d_m}, \quad (9),$$

$$n = \frac{2.5}{3.14 \cdot 0.08} = 10 \text{ (с}^{-1}\text{)}.$$

Для досягнення потрібної ефективності перемішування середовища встановлюємо 1 турбінну мішалку на одному валу.

При роботі мішалки для перемішування середовища без врахування впливу допоміжних пристроїв потужність, що споживається:

$$N_m = K_N \cdot \rho_c \cdot n^3 \cdot d_m^5; \quad (10),$$

де K_N – критерій потужності, що залежить від інтенсивності перемішування і характеризується центробіжним критерієм Рейнольдса:

$$\text{Re}_\eta = \frac{\rho_c \cdot n \cdot d_m^2}{\mu_c}, \quad (11),$$

$$\text{Re}_\eta = \frac{1008 \cdot 10 \cdot 0.08^2}{697.76 \cdot 10^{-6}} = 0.14 \cdot 10^6.$$

За графіком нормалі знаходимо значення $K_N = f(\text{Re}_\eta)$:

$$K_N = 0.01.$$

Тоді за (5.14) потужність, що споживається становить:

$$N_m = 0.01 \cdot 1008 \cdot 10^3 \cdot 0.08^5 = 0.033 \text{ (кВт)}, \quad (12),$$

Враховуючи, що на валу міститься 1 мішалка:

$$N_m = N_m \cdot (0.4 + 0.6 \cdot m) = 0.033 \cdot 10^3 (0.4 + 0.6 \cdot 1) = 0.033 \text{ (кВт)},$$

Де m – кількість мішалок. При $m = 1$:

Тоді розрахункова потужність на валу мішалки:

$$N_p = k_1 \cdot k_2 \cdot (\sum k + 1) \cdot N_m; \quad (13),$$

де k_2 – коефіцієнт, що враховує збільшення потужності, що споживається, при пуску чи в результаті збільшення опору середовища при перемішуванні, приймаємо $k_2 = 1.1$ [11].

Коефіцієнт, що враховує ступінь заповнення апарату середовищем:

$$k_1 = \frac{H_p}{D_{\text{ан}}},$$

$$k_1 = \frac{H_{\text{заг}} \cdot \varphi}{D_{\text{ан}}} = \frac{0.670 \cdot 0.8}{0.250} = 2.1. \quad (14),$$

Сума коефіцієнтів, що враховують збільшення потужності через наявність в апараті допоміжних пристроїв:

$$\sum k = 0.2 + 0.1 = 0.3. \quad (15),$$

Тоді:

$$N_p = 2.1 \cdot 1.1 \cdot (0.3 + 1) \cdot 0.033 = 0.09 \text{ (кВт)}. \quad (16),$$

Кінцева встановлена потужності приводного електродвигуна для перемішуючого пристрою ферментера:

$$N_{\text{вст}} = 1.15 \cdot \frac{N_p}{\eta}; \quad (17),$$

де $\eta = 0.85$ – ККД редуктора приводу.

Тобто:

$$N_{уст} = 1.15 \cdot \frac{0.09}{0.85} = 0.1 (\text{кВт}).$$

5.7 Тепловий розрахунок

В процесі життєдіяльності мікроорганізмів виділяється тепло. Оскільки відбувається підвищення температури культуральної рідини, синтез інтерферону уповільнюється. З часом можлива загибель мікроорганізму. Для вирішення даної проблеми ферментер повинен бути обладнаний теплообмінними пристроями (змійовиками, рубашкою, тепловими трубами). Для відведення теплоти, що виділяється при біохімічних реакціях і в результаті інтенсивного перемішування встановлюємо рубашку [13, 15].

Тепловиділення становить:

$$\Delta H = 16.8 \cdot 10^3 (\text{кДж/кг}) [22]. \quad (18),$$

Для спрощення розрахунків приймаємо, що біосинтез відбувається протягом $\tau = 24 \text{ год}$, і виділення тепла в цей період відбувається рівномірно. Тоді кількість біологічного тепла, що виділяється культурою:

$$G_0 = 0.0295 \cdot 5 = 0.147 \text{ кг}, \quad (19),$$

$$Q = \Delta H \cdot \frac{G_0}{\tau} = 16.8 \cdot 10^3 \frac{0.147}{24 \cdot 3600} = 0.028 \text{ кВт}, \quad (20),$$

Теплоту, яка утворюється в ферментері внаслідок перемішування, реакції і потрапляє з повітрям [16].

$$Q_1 = Q_m + Q_b + Q_{нов}, \quad (21),$$

де $Q_{нов}$ – тепло, що потрапляє в ферментер з повітрям. В розрахунках його можна не враховувати, оскільки величина його не значна, бо повітря подається в апарат з температурою, близькою до температури середовища; тепло, що виділяється при роботі мішалки – $Q_m = N_m = 0.033 (\text{кВт})$.

Тоді загальна теплота, що утворюється в ферментері складає:

Втрати на тепловипромінювання в оточуюче середовище приймаємо 2% від

Q_1 :

$$Q_{\text{втр}} = 0.02 \cdot Q_m, \quad (22),$$

$$Q_{\text{втр}} = 0.02 \cdot 0.033 = 0.0006 (\text{кВт}),$$

Тепло, що відводиться водою:

$$Q_{\text{вод}} = Q_m - Q_{\text{втр}} = 0.033 - 0.0006 = 0.032 (\text{кВт}), \quad (23),$$

Необхідна поверхня охолодження ферментера:

$$F = \frac{Q_{\text{вод}}}{k \cdot \Delta t_{\text{cp}}}, \quad (24),$$

де k – коефіцієнт теплопередачі від охолоджуючої води до охолоджуемого середовища [17].

Розрахуємо середню різницю температур Δt_{cp} :

$$\Delta t_{\delta} = t_c - t_s' = 37 - 23 = 14^{\circ}\text{C}, \quad (25),$$

$$\Delta t_{\mu} = t_c - t_s'' = 37 - 30 = 7^{\circ}\text{C}, \quad (26),$$

$$\frac{\Delta t_{\delta}}{\Delta t_{\mu}} = \frac{14}{7} = 2 \geq 2, \quad (27),$$

тому для визначення середньої різниці температур обираємо формулу:

$$\Delta t_{\text{cp}} = \frac{\Delta t_{\delta} - \Delta t_{\mu}}{\ln \frac{\Delta t_{\delta}}{\Delta t_{\mu}}}, \quad (28),$$

$$\Delta t_{\text{cp}} = \frac{17 - 7}{\ln \frac{17}{7}} = 11.27^{\circ}\text{C}. \quad (29),$$

Для апаратів з рубашками при перемішуванні мішалкою коефіцієнт тепловіддачі від середовища, що перемішується, до стінки визначають з рівняння:

$$\alpha_1 = Nu_c \cdot Re_c^{0.67} \cdot Pr_c^{0.33} \cdot \left(\frac{\mu_c}{\mu_{c,m}} \right)^{0.14}, \quad (30),$$

Критерій Нуссельта, що характеризує інтенсивність тепловіддачі на потік – стінка:

$$Nu_c = 0.36 \cdot \frac{\lambda_c}{D_{\text{вн}}}, \quad (31),$$

Критерій Рейнольдса, що характеризує співвідношення сил інерції та молекулярного тертя в потоці:

$$Re_c = \frac{\rho_c \cdot n \cdot d_m^2}{\mu_c}, \quad (32),$$

Критерій Прандтля, що характеризує фізичні властивості потоку:

$$Pr_c = \frac{c_c \cdot \mu_c}{\lambda_c}, \quad (33),$$

Після підстановки значень критеріїв, що входять в неї, вона приймає наступний вигляд: [16,17].

$$\alpha_1 = 0.36 \cdot \frac{\lambda_c}{D_{\text{вн}}} \cdot \left(\frac{\rho_c \cdot n \cdot d_m^2}{\mu_c} \right)^{0.67} \cdot \left(\frac{c_c \cdot \mu_c}{\lambda_c} \right)^{0.33} \cdot \left(\frac{\mu_c}{\mu_{c_{\text{ст}}}} \right)^{0.14}, \quad (34),$$

де $\mu_{c_{\text{ст}}}$ і μ_c – коефіцієнт динамічної в'язкості середовища при температурі стінки і при середній температурі рідини [18].

Звідси коефіцієнт тепловіддачі від середовища, що перемішується, до стінки:

$$\alpha_1 = 0.36 \cdot \frac{\lambda_c}{D_{\text{вн}}} \cdot \left(\frac{\rho_c \cdot n \cdot d_m^2}{\mu_c} \right)^{0.67} \cdot \left(\frac{c_c \cdot \mu_c}{\lambda_c} \right)^{0.33} \cdot \left(\frac{\mu_c}{\mu_{c_{\text{ст}}}} \right)^{0.14} = 0.36 \cdot \frac{0.589}{0.250} \cdot \left(\frac{1008 \cdot 16 \cdot 0.08^2}{697.76 \cdot 10^{-6}} \right)^{0.67} \cdot \left(\frac{3.7 \cdot 10^3 \cdot 697.76 \cdot 10^{-6}}{0.589} \right)^{0.33} \cdot \left(\frac{697.76 \cdot 10^{-6}}{701.1 \cdot 10^{-6}} \right)^{0.14} = 2931.9 \text{ (Вт / м}^2 \cdot \text{К)},$$

Коефіцієнт тепловіддачі від стінки ферментера до охолоджуючої води визначаємо за формулою для потоку кільцевого перерізу:

$$\alpha_2 = \frac{Nu_s \cdot \lambda_s}{d_{\text{зов.а}}}, \quad (35),$$

де зовнішній діаметр корпусу ферментера:

$$d_{\text{зов.а}} = D_{\text{вн}} + 2 \cdot S = 0.250 + 2 \cdot 0.005 = 0.260 \text{ (м)}, \quad (36),$$

внутрішній діаметр рубашки ферментеру:

$$D_{\text{вн.с.}} = d_{\text{зов.а}} + 2 \cdot 0.038 = 0.260 + 2 \cdot 0.015 = 0.290 \text{ (м)}, \quad (37),$$

Критерій Нуссельта, що характеризує інтенсивність тепловіддачі на межі потік – стінка:

$$Nu_s = 0.023 \cdot Re_s^{0.8} \cdot Pr_s^{0.4} \cdot \left(\frac{D_{вн.с}}{d_{зов.а}} \right)^{0.45}, \quad (38),$$

— Критерій Рейнольдса, що характеризує співвідношення сил інерції та молекулярного тертя в потоці:

$$Re_s = \frac{\omega_s \cdot d_{зов.а}}{\nu_s}, \quad (39)$$

Швидкість води в рубашці ферментеру:

Задамось витратою води для охолодження: $G_s = 0.02 (м/с)$.

Тоді:

$$\omega_s = \frac{G_s}{0.785 \cdot 10^{-2} \cdot (D_{вн.с}^2 - d_{зов.а}^2) \cdot \rho_s} = \frac{0.02}{0.785 \cdot (0.290^2 - 0.260^2) \cdot 988} = 0.23 (м/с), \quad (40),$$

Звідки:

$$Re_s = \frac{0.23 \cdot 0.260}{0.84 \cdot 10^{-6}} = 71190.4,$$

$$Nu_s = 0.023 \cdot 71190.4^{0.8} \cdot 4.7^{0.4} \cdot \left(\frac{0.290}{0.260} \right)^{0.45} = 341.8, \quad (41),$$

Коефіцієнт тепловіддачі від стінки ферментера до охолоджуючої води:

$$\alpha_2 = \frac{Nu_s \cdot \lambda_s}{d_{зов.а}} = \frac{341.8 \cdot 0.63}{0.260} = 828.2 (Вт/м^2 \cdot К),$$

Коефіцієнт теплопередачі від середовища, що охолоджується, до охолоджуючої води [18]:

$$k = \frac{1}{\frac{1}{R_{пак}} + \frac{1}{\alpha_1} + \frac{S}{\lambda_{ст}} + \frac{1}{\alpha_2} + \frac{1}{R_{пре}}}, \quad (42),$$

де товщина стінки ферментера $S = 0.005 \text{ м}$, коефіцієнт теплопровідності стінки ферментера (поліетелентерафталат) $\lambda_{ст} = 0.188 \text{ Вт/м} \cdot \text{К}$, коефіцієнти тепловіддачі, які враховують забруднення стінок відкладеннями в процесі експлуатації, що призводить до погіршення коефіцієнту теплопередачі, становлять $\frac{1}{R_{нах}} = 3000 \text{ Вт/м}^2 \cdot \text{К}$ і $\frac{1}{R_{орг}} = 5800 \text{ Вт/м}^2 \cdot \text{К}$ [19].

Тоді :

$$k = \frac{1}{\frac{1}{3000} + \frac{1}{2931.9} + \frac{0.005}{0.188} + \frac{1}{828.2} + \frac{1}{5800}} = 34.9 (\text{Вт/м}^2 \cdot \text{К}), \quad (43),$$

Поверхня охолодження рубашки ферментера:

$$F = \frac{Q_{оод}}{k \cdot \Delta t_{cp}} = \frac{0.033 \cdot 10^3}{34.9 \cdot 11.27} = 0.083 (\text{м}^2), \quad (44),$$

При діаметрі корпусу ферментера:

$$d_{зов.а} = D_{ан} + 2 \cdot S = 0.250 + 2 \cdot 0.005 = 0.26 (\text{м}), \quad (45),$$

Висота рубашки:

$$H_p = \frac{F}{\pi \cdot d_{зов.а}}, \quad (46),$$

$$H_p = \frac{0.083}{3.14 \cdot 0.260} = 0.1 (\text{м}),$$

$$0.1 \leq 0.67$$

Таким чином поверхня теплообміну рубашки апарата забезпечить заданий температурний режим протягом його роботи без додаткових теплообмінників [19].

5.8 Розрахунок барботера

Процес ферментації триває при інтенсивному перемішуванні і аерації, а саме: 0.8 – 1.0 об'єм повітря на об'єм поживного середовища в 1 хвилину. Приймаємо, що хвилинна витрата повітря складають $V_m = 1 \text{ м}^3 / \text{хв}$.

Визначимо геометричні розміри барботера.

Діаметр барботера:

$$D_b = d_m = 0.08(\text{м}), \quad (47),$$

Відстань між барботером і турбінною мішалкою:

$$h_b = 0.25 \cdot d_m, \quad (48),$$

$$h_b = 0.25 \cdot 0.08 = 0.02 (\text{м}),$$

Секундна витрата повітря:

$$V_c = \frac{V_m}{60} = \frac{1}{60} = 0.0166 (\text{м}^3 / \text{с}), \quad (49),$$

Для аерації всього об'єму культуральної рідини необхідно:

$$V_{\text{заг}} = V_c \cdot V_p, \quad (50),$$

$$V_{\text{заг}} = 0.0166 \cdot 0.0236 = 0.00039 (\text{м}^3 / \text{с}),$$

Приймемо, що швидкість виходу повітря з барботера становить $\omega = 30 \text{ м/с}$, тоді площа всіх отворів барботера повинна становити:

$$F_{\text{заг}} = \frac{V_{\text{заг}}}{\omega} = \frac{0.00039}{30} = 0.000013 (\text{м}^2), \quad (51),$$

Визначимо кількість отворів на трубі барботера:

$$n_{\text{отв}} = \frac{F_{\text{заг}}}{8 \cdot F_1}, \quad (52),$$

де площа одного отвору:

$$F_1 = \pi \cdot R_1^2, \quad (53),$$

при радіусі отвору $R_1 = 0.00135 \text{ м}$.

Тоді:

$$F_1 = 3.14 \cdot 0.00135^2 = 0.0000057 (\text{м}^2), \quad (54),$$

і відповідно:

$$n_{opt} = \frac{0.000013}{8 \cdot 0.0000057} = 18(\mu m),$$

Такий барботер з розрахованими розмірами повинен забезпечити необхідну І аерацію для синтезу інтерферону [18,19].

5.9 Висновки

Всі проведені розрахунки підтверджують роботоздатність та ефективність робочої установки. В результаті проведених розрахунків було оптимально підібрано всі складові частини апарату, визначено оптимальні температурні показники, вибрано габаритні розміри та підібрано максимально підходящий період культивування. Розроблений перемішуючий пристрій математично пройшов перевірку на ефективність.

6 РОЗРАХУНОК НА МІЦНІСТЬ ТА СТІЙКІСТЬ

6.1 Розрахунок на міцність та стійкість біореактора

Метою розрахунку на міцність елементів біореактора є перевірка чи витримають дані елементи навантаження що будуть виникати в даному реакторі у процесі роботи.

Вихідні дані

Робочий об'єм апарата	$V_p = 0.0236 \text{ м}^3$
Маса апарата	$m = 18.46 \text{ кг}$
Надлишковий тиск у апараті	$P = 0.1 \text{ МПа}$

Властивості матеріалу ферментера (Таблиця 1)

Свойство	Значение	Единицы измерения
Модуль упругости	2380	Н/мм ²
Коефициент Пуассона	0.3897	Не применимо
Модуль сдвига		Н/мм ²
Массовая плотность	1310	кг/м ³
Предел прочности при растяжении	53.4	Н/мм ²
Предел прочности при сжатии	74	Н/мм ²
Предел текучести	103.6488	Н/мм ²
Коефициент теплового расширения		/К
Теплопроводность	0.188	W/(м·К)

Таблиця 1. Фізичні властивості поліетилентерфталату

Статичний аналіз вибраної конструкції будемо проводити за допомогою програми для графічного моделювання SolidWorks. Для спрощення розрахунків та отримання більш детальних результатів навантаження будемо проводити не на весь апарат, а на кожен його елемент окремо. Елементи будуть піддаватись надлишковому тиску 0.1 МПа.

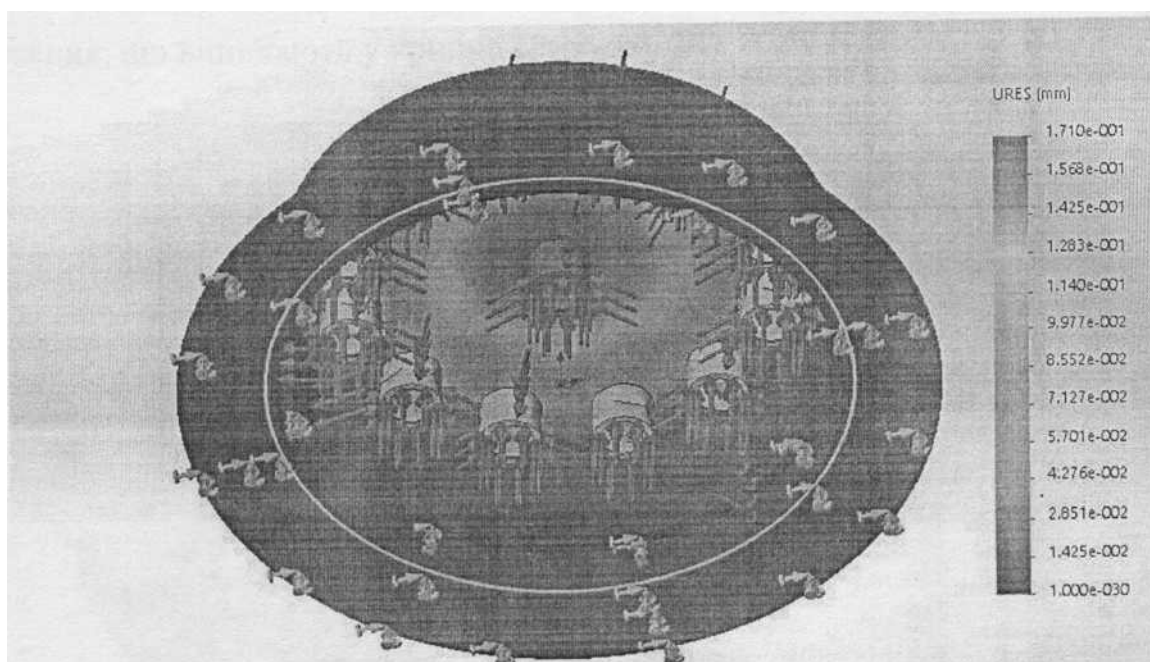


Рисунок 19. Переміщення у кришці

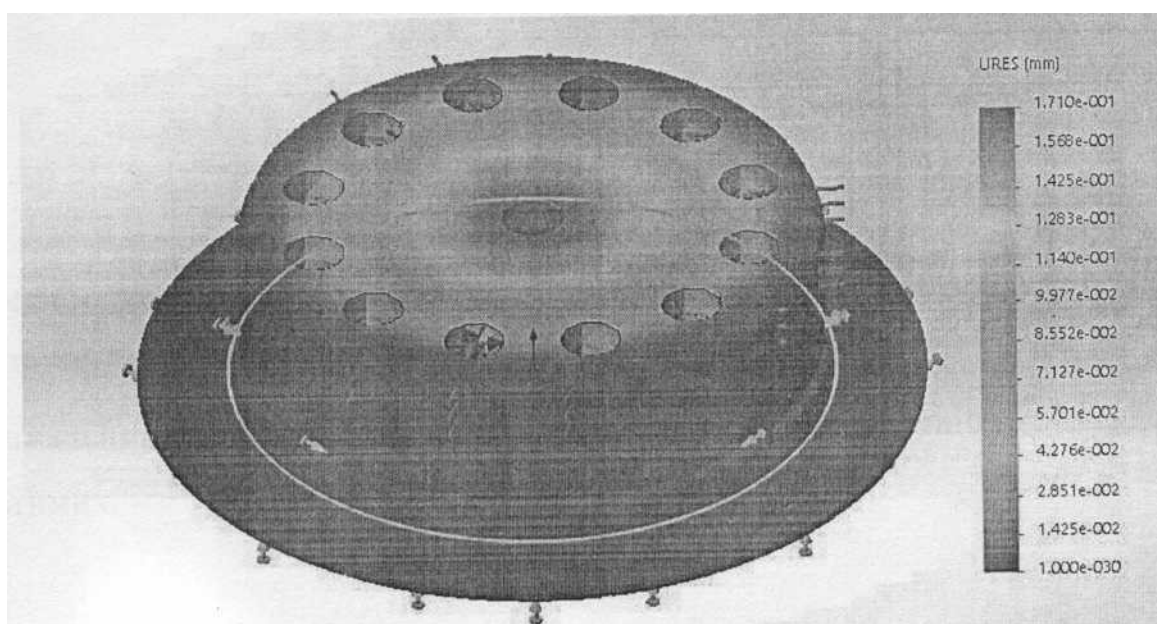


Рисунок 19.1. Переміщення у кришці

Напруження, що виникають у кришці (Рисунку 20).

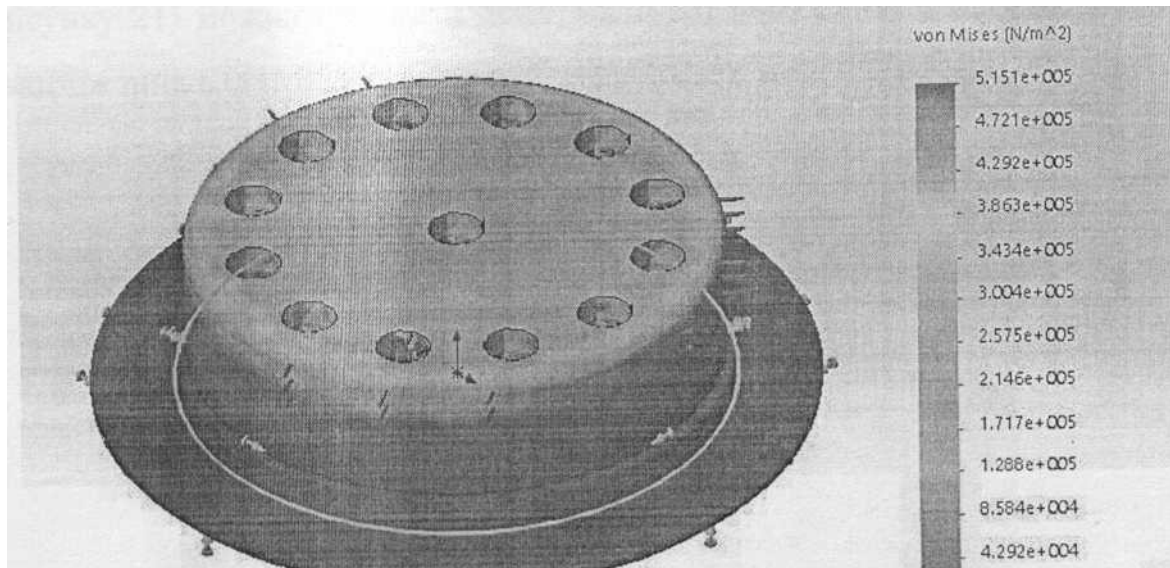


Рисунок 20. Напруження у кришці

Аналіз результатів

Отримані результати показують, що даний елемент повністю втримує навантаження при цьому максимальні переміщення дорівнюють: $1.7 \cdot 10^{-1}$ мм. Максимальні деформації: $9.7 \cdot 10^{-5}$ мм А максимальні напруження не перевищують допустимих.

Результати конструктивного розрахунку

І На (Рисунку 21) можна побачити деформації які виникають у корпусі апарата при дії навантаження в 0.1МПа.

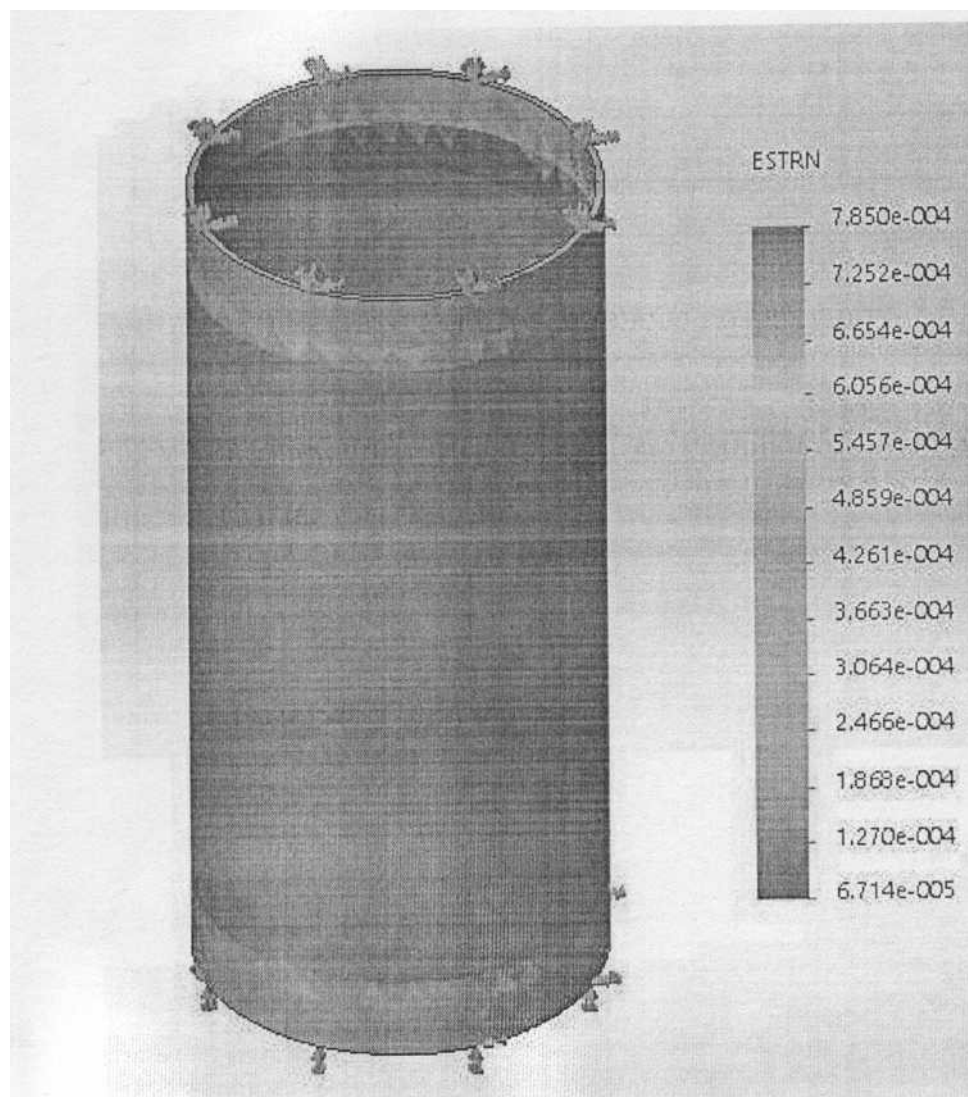
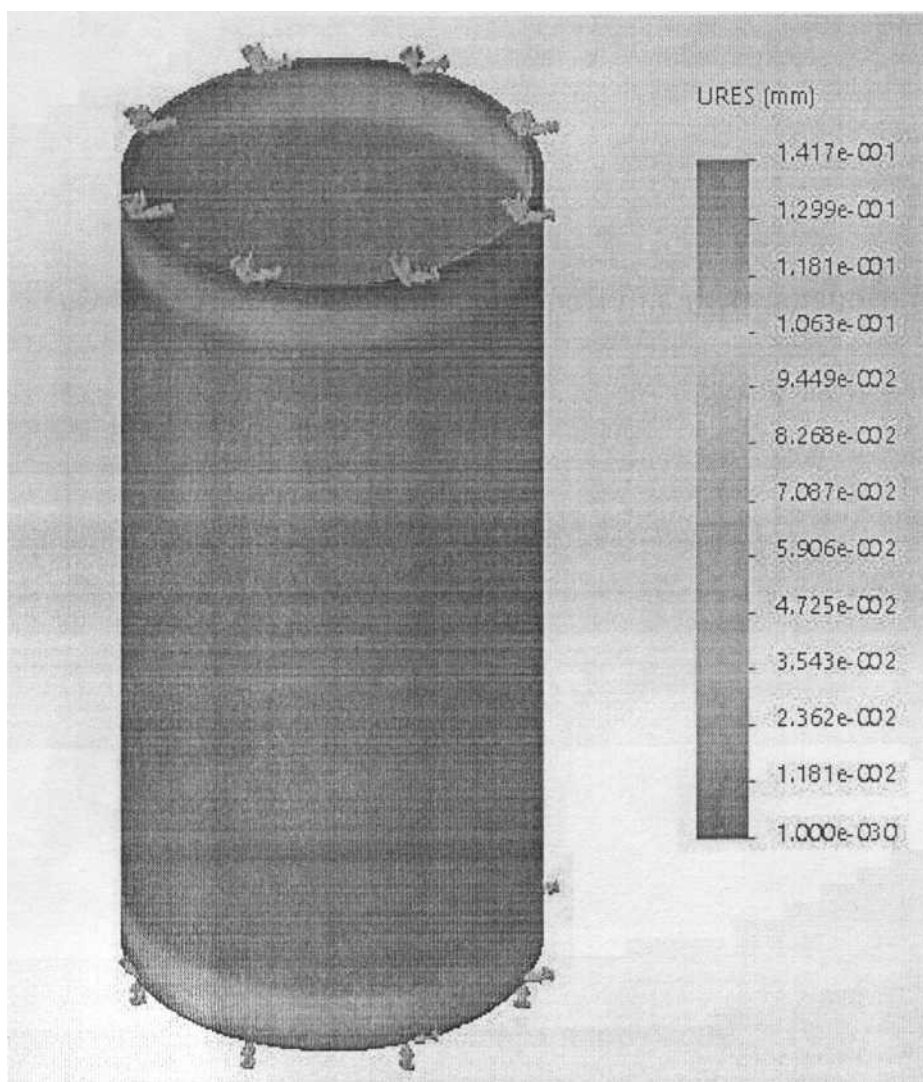


Рисунок 21 .Деформації у корпусі апарата

На (Рисунок 22) зображені переміщення в апараті під дією заданого навантаження.



Рисунок

22.Переміщення у корпусі апарата

Напруження, що виникають у корпусі (Рисунку 23).

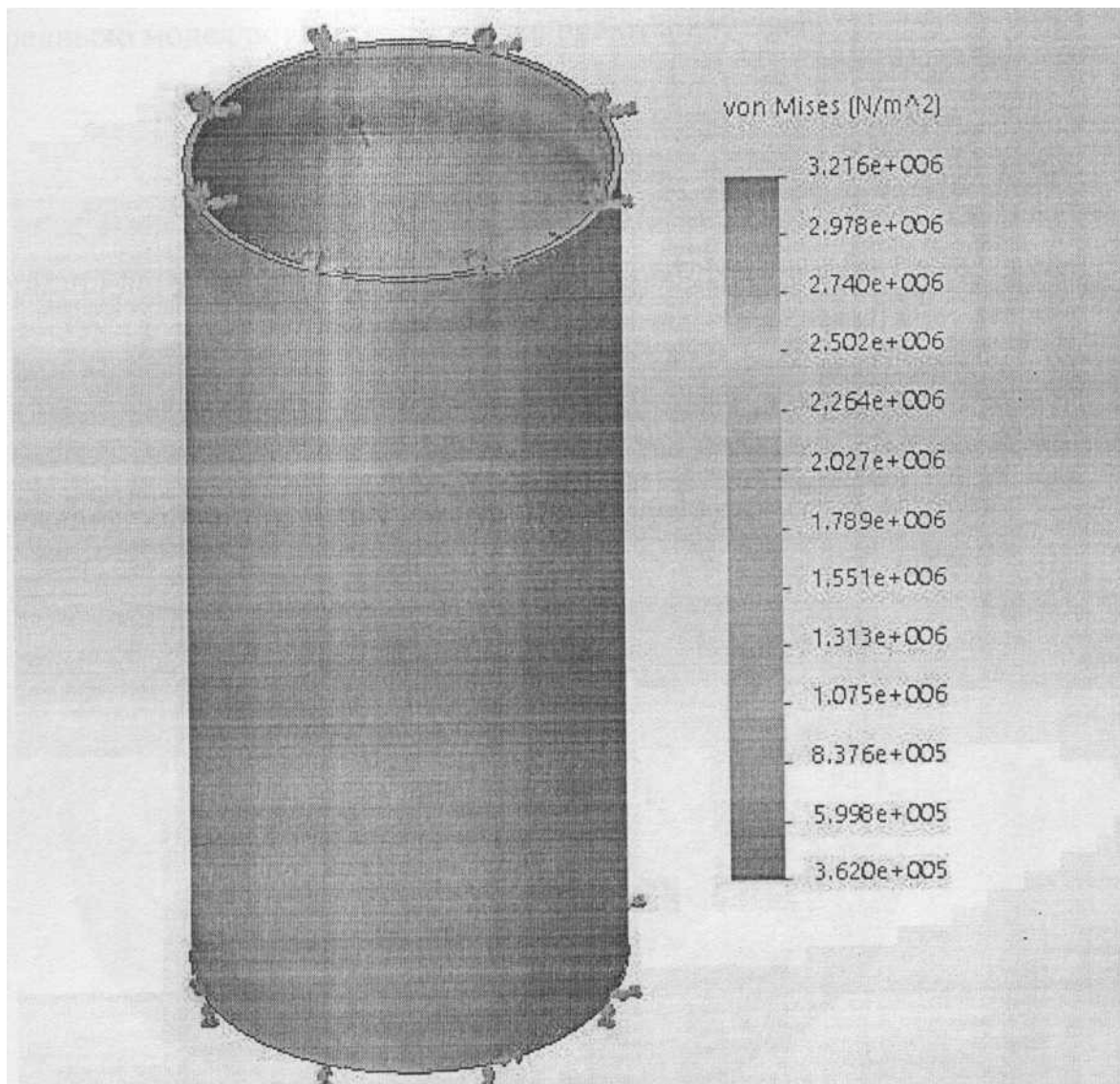


Рисунок 23.Епюра напружень

Аналіз результатів

Отримані результати показують, що даний елемент повністю втримує навантаження при цьому максимальні переміщення дорівнюють: $1.4 \cdot 10^{-7} \text{ м.м.}$

Максимальні деформації: $7.8 \cdot 10^{-4}$. А максимальні напруження не перевищують допустимих.

Далі проведемо розрахунок на міцність та стійкість днища ферментера попередньою моделлю. Вихідні дані залишаються ті самі.

Результати конструктивних розрахунків

Деформації що утворюються у днищі під час роботи (Рисунок 24).

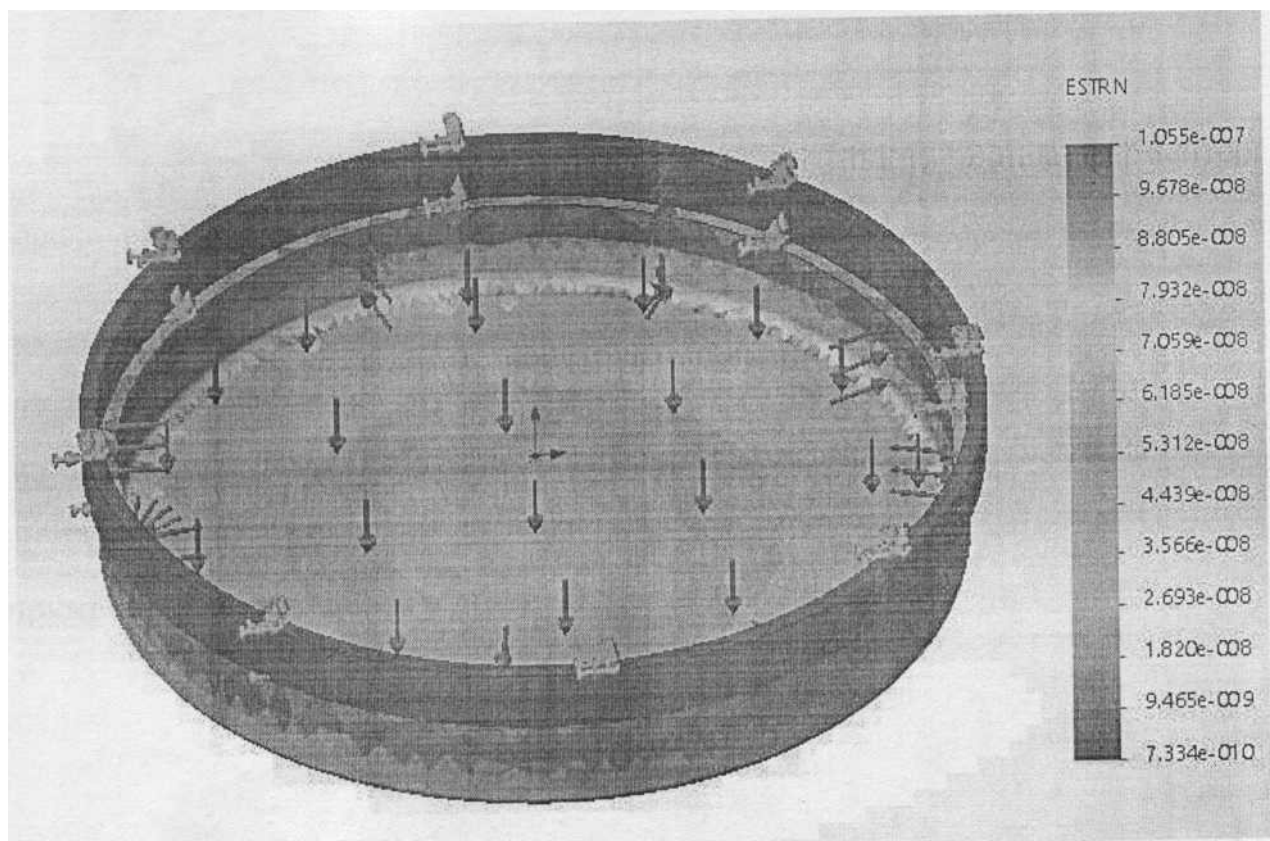


Рисунок 24.Епюра деформацій днища

Переміщення у днищі ферментера при заданому надлишковому тиску(Рисунок 25).

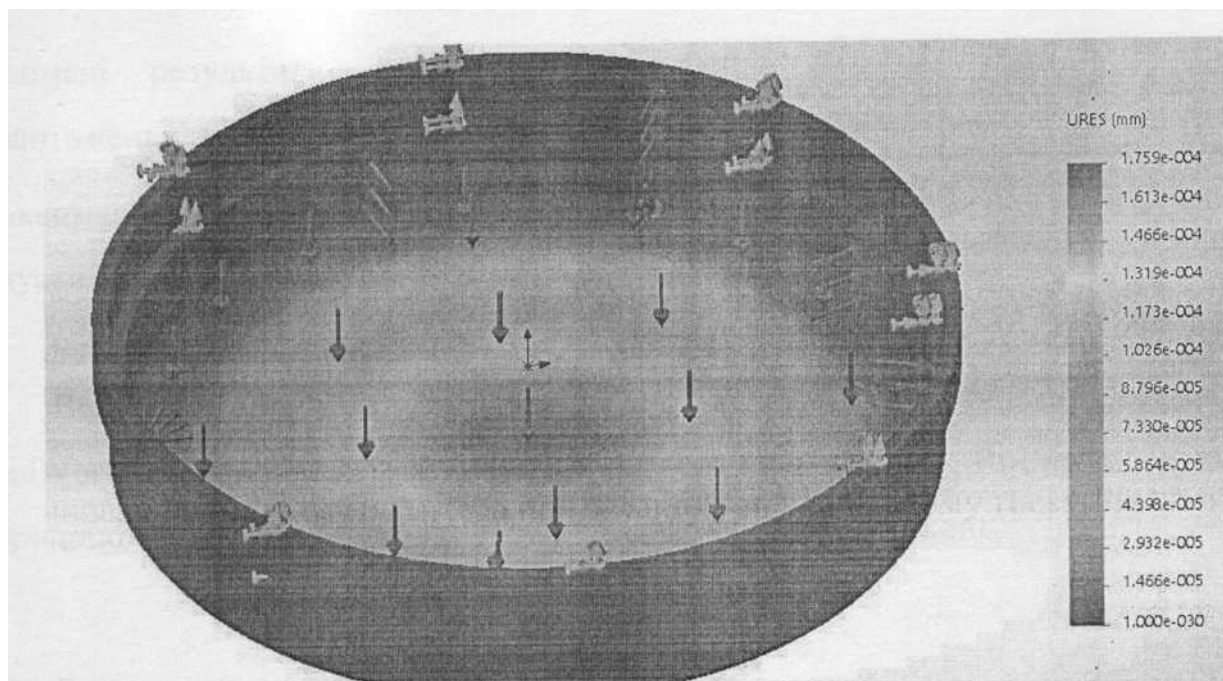


Рисунок 25. Епюра переміщень днища

Напруження, що виникають у днищі апарата (Рисунок 26).

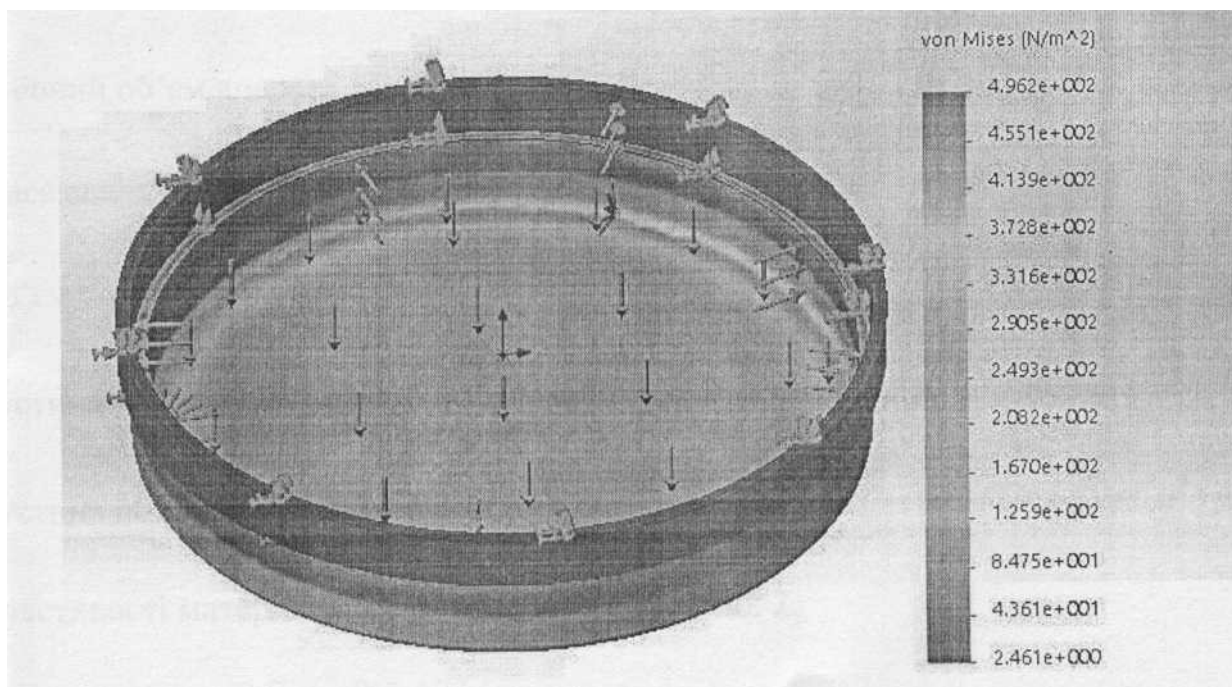


Рисунок 26.Епюра напружень у днищі

Аналіз результатів

Отримані результати показують, що даний елемент повністю витримує навантаження при цьому максимальні переміщення дорівнюють: $1.7 \cdot 10^{-4} \text{ мм}$. Максимальні деформації: $1.05 \cdot 10^{-7} \text{ мм}$. А максимальні напруження не перевищують допустимих.

Висновок: провівши симуляції у програмі графічного моделювання SolidWorks я впевнився у надійності конструкції ферментера. Він працюватиме при запропонованому надлишковому тиску без жодних пошкоджень.

6.2 Розрахунок на міцність і стійкість корпусу-сорочки

Метою розрахунку на міцність сорочки є перевірка даного корпусу-сорочки на предмет витримування ним власної ваги апарату та заповнення поживним середовищем і теплоносієм.

Вихідні дані

Робочий об'єм апарата	$V_p = 0.0236 \text{ м}^3$
Маса апарата	$m = 18.46 \text{ кг}$
Об'єм сорочки з встановленим ферментом	$V_c = 0.0031 \text{ м}^3$
Густина теплоносія(води)	$\rho_s = 1000 \text{ (кг / м}^3\text{)}$
Густина поживного середовища	$\rho_s = 1008 \text{ (кг / м}^3\text{)}$

Властивості матеріалу корпусу-сорочки Таблиця 2.

Таблиця 2. Властивості поліетилентерафталату

Свойство	Значение	Единицы измерения
Модуль упругости	2380	Н/мм ²
Коэффициент Пуассона	0.3897	Не применимо
Модуль сдвига		Н/мм ²
Массовая плотность	1310	кг/м ³
Предел прочности при растяжении	53.4	Н/мм ²
Предел прочности при сжатии	74	Н/мм ²
Предел текучести	103.6488	Н/мм ²
Коэффициент теплового расширения		/К
Теплопроводность	0.188	W/(м·К)

Статичний аналіз вибраної конструкції будемо проводити у середовищі *SolidWorks*. Навантаження, що діятиме на конструкцію розраховуємо нижче:

Загальне навантаження, що діятиме на апарат дорівнює сумі власної ваги апарата, ваги поживного середовища та ваги теплоносія.

$$M = m + m_c + m_g, \quad (55),$$

Де маса поживного середовища:

$$m_c = V_p \cdot \rho_c, \quad (56),$$

$$m_c = 0.0236 \cdot 1008 = 23.7 \text{ кг},$$

Маса теплоносія дорівнює:

$$m_g = V_g \cdot \rho_g, \quad (57),$$

$$m_g = 0.0031 \cdot 1000 = 3.1 \text{ кг},$$

Тоді:

$$M = 18.46 + 23.7 + 3.1 = 45.26 \text{ кг}.$$

1. Розрахунки проводимо у середовищі SolidWorks, блоці «Simulation».
2. Використовуючи бібліотеки середовища задаємо фізичними властивостями матеріалу (Табл. 2).
3. Задаємо пороховане навантаження 45.26 кг
4. Запускаємо розрахунки.

Результати конструктивних розрахунків

Деформації що утворюються у корпусі-сорочці під час роботи (Рисунок 27).

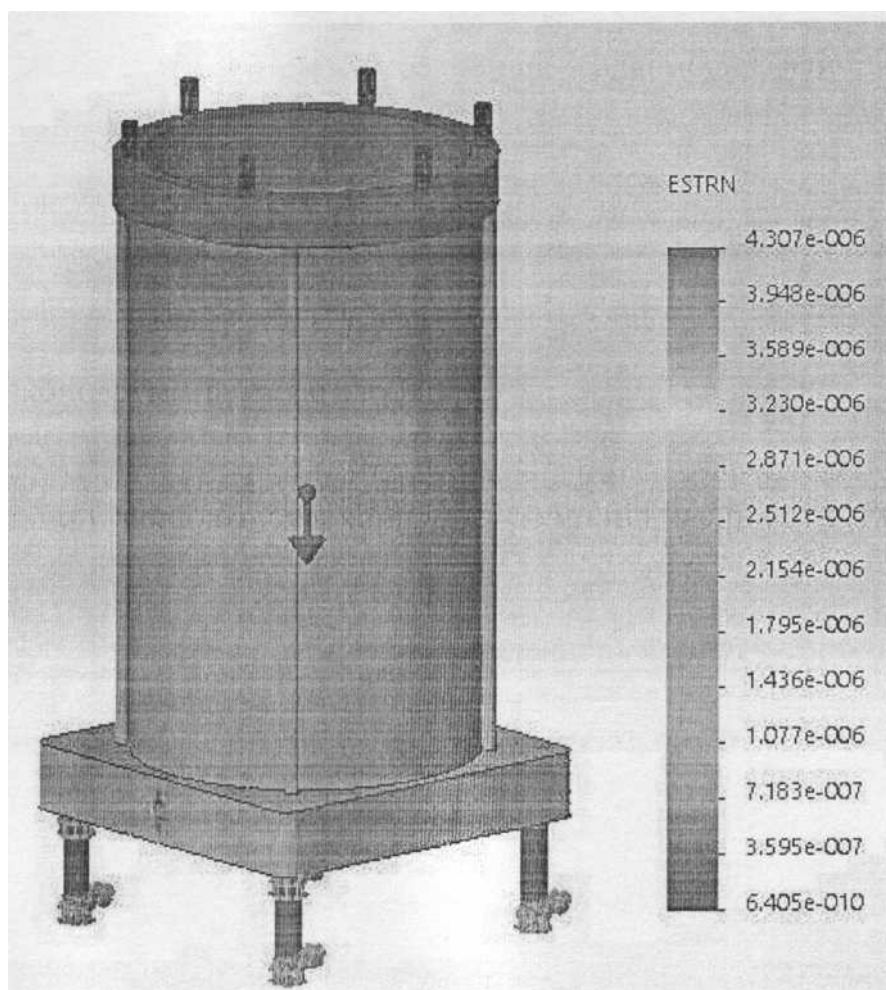


Рисунок 27. Епюра деформацій корпусу-сорочки

І Переміщення у свою чергу показані на (Рисунок 28)

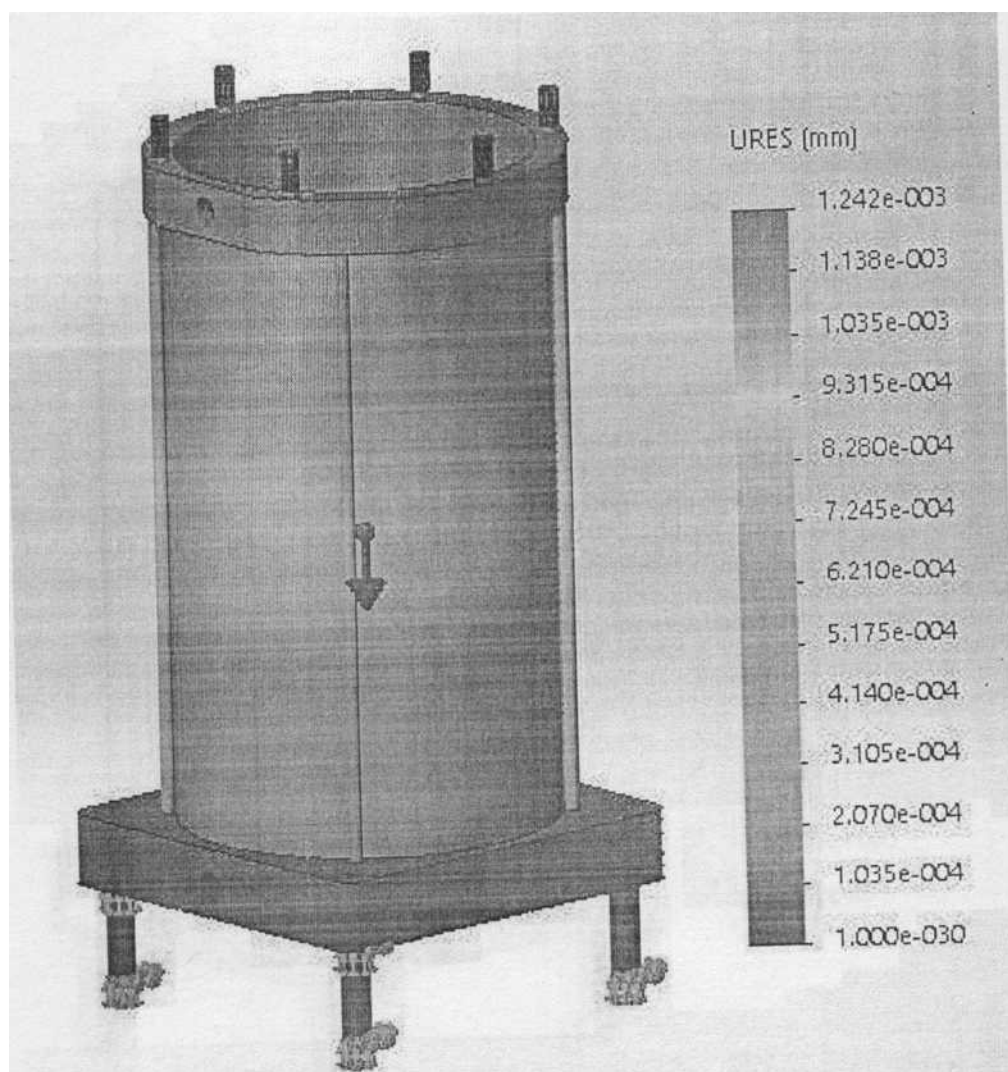


Рисунок 28. Епюра переміщень корпусу-сорочки

Максимальні напруження, що виникають зображені на (Рисунок 29).

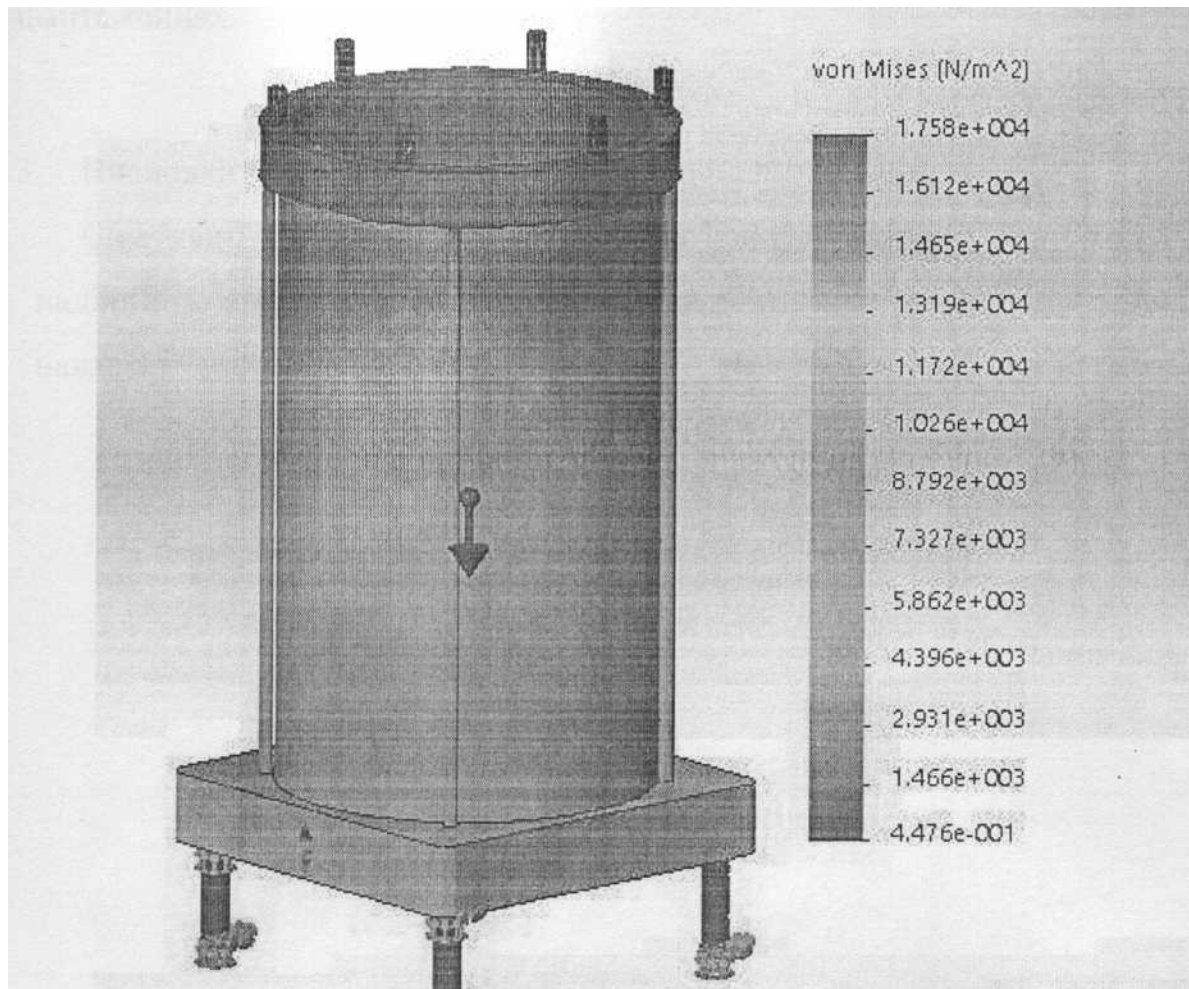


Рисунок 29. Епюра напружень корпусу-сорочки

Аналіз результатів

Отримані результати показують, що даний елемент повністю витримує навантаження при цьому максимальні переміщення дорівнюють: $1.2 \cdot 10^{-3}$ мм.

А максимальні деформації: $4.3 \cdot 10^{-6}$ мм. А максимальні напруження не перевищують допустимих.

Висновок: симуляції у програмі графічного моделювання *SolidWorks* показали надійність апарату та його повну здатність працювати при запропонованих навантаженнях.

6.3 Висновки

Симуляції у програмі графічного моделювання *SolidWorks* показали надійність апарату та його повну здатність працювати при запропонованих навантаженнях.

7 РЕКОМЕНДАЦІЇ ГІО МОНТАЖУ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ

Монтаж обладнання на хімічних і нафтопереробних підприємствах, тобто установлення виробу чи його складових частин на місці застосування, проводять під час будівництва нових об'єктів, а також під час реконструкції і ремонту діючих. В останніх двох випадках монтажу передуює демонтаж, який проводять зазвичай у зворотній послідовності.

Монтажні роботи під час будівництва великих об'єктів викопують спеціалізованими монтажними організаціями. На об'єкті працюють також інші спеціалізовані організації, які виконують будівельні, сантехнічні та електромонтажні роботи, роботи з хімічного захисту обладнання, монтажу контрольно-вимірювальних приладів і засобів автоматизації тощо.

Дії усіх організацій, які беруть участь у спорудженні об'єкта, координує одна з них, яку називають *генеральним підрядчиком* (зазвичай це будівельна організація). Інші організації, яких залучають до спорудження об'єкта, називають *субпідрядними організаціями*; вони укладають з генеральним підрядчиком договори на виконання відповідного обсягу роботи.

Виробничі підрозділи кожної організації виконують такі види робіт: такелажні (навантажування, розвантажування, переміщення і встановлення обладнання в проектне положення); слюсарно-монтажні (складання обладнання, передусім технологічного); механоскладальні (монтаж і налагодження насосів, компресорів, вентиляторів тощо); монтаж металоконструкцій (складання сходів, площадок для обслуговування тощо); зварювання, прокладання трубопроводів та деякі інші роботи.

Розрізняють три методи монтажу обладнання:

- *індустріальний метод*
- *метод монтажу збільшуваними блоками*
- *метод монтажу за місцем*

Згідно наших потреб обираємо *метод монтажу за місцем*, він полягає у тому, що обладнання складають па місці його установалення з окремих вузлів і деталей. Цим методом користуються під час монтажу конвеєрів, елеваторів, транспортерів, обладнання після капітального ремонту. Метод потребує багато часу і кваліфікованих монтажників.

Незалежно від методу монтажу до його початку мають бути виконані роботи нульового циклу: підготовлені тимчасові під'їзди і проїзди; виготовлені фундаменти; монтажні майданчики покриті збірними залізобетонними плитами, забезпечені водопроводом, каналізацією, електрикою; підготовлені виробничі, адміністративно-побутові і санітарні приміщення; обладнано інструментальні комори й ремонтні майстерні, а також майданчик збільшувального складання і зберігання обладнання; здійснені заходи з техніки безпеки, охорони праці, протипожежної безпеки і промислової санітарії.

Одним з основних показників якості обладнання хімічних виробництв є його *надійність*, тобто властивість об'єкта зберігати у часі в установлених межах значення усіх параметрів, які характеризують здатність виконувати потрібні функції в заданих режимах та умовах застосування, технічного обслуговування, зберігання і транспортування (ДСТУ 2860-94).

Обладнання, поверхні якого контактують з рухомим відносно них рідким, газоподібним або твердим середовищем, є найрозповсюдженішим у хімічній промисловості. Такий контакт пов'язаний зі зношуванням деталей і складаних одиниць і є однією з основних причин виникнення поступових відмов обладнання. Складальні роботи з монтажу полягають в установці апаратів на металоконструкції, установці і приєднанні допоміжного устаткування, приєднання трубопроводів, деталей вузлів підведення і відводу продуктів, установці приладів теплового контролю й автоматичного регулювання. У процесі монтажу виявляються й усуваються дефекти конструкції і виготовлення апаратури.

Одночасно здійснюється налагодження роботи апарата з метою підготовки до експлуатації.

Проектом виробництва монтажних-складальних робіт передбачається наступна послідовність операцій складання:

- установка корпусу апарата на металоконструкцію;
- установка елементів, що знаходяться всередині апарата;
- припасування і приєднання всіх трубопроводів;
- установка арматури і контрольно-вимірювальних приладів;
- герметизація місць з'єднання апарата (кришок, фланців і т.д.);
- приєднання допоміжних механізмів і пристроїв;
- установка огорожень;
- випробування апарата на герметичність і здача інженеру Держтехнагляду;
- пробна експлуатація установки;
- проведення теплоізоляційних робіт (якщо потрібно);
- здача установки в експлуатацію.

Після закінчення монтажних-збиральних робіт апарат має неодмінно пройти випробування. Спочатку проводять підготовчі роботи, пов'язані з оглядом та перевіркою старію всіх частин та вузлів апарата. При цьому особливу увагу необхідно звернути на присутність в конструкції арматури, приладів, кришок, заглушок, болтів, прокладок та інших деталей, які забезпечують герметичність системи.

В програму випробувань входить гідравлічне та пневматичне випробування апарата разом з трубопроводами на тиск, який вказаний на кресленні. При

випробуваннях виявляють герметичність та надійність роботи вентилів, кранів, клапанів та іншої арматури, а також щільність всіх роз'ємних з'єднань.

Підготовка апарата до експлуатації включає перевірку витрат холодоносіїв, температур холодоносіїв на вході та на виході з апарату, тиск всередині апарата та в трубопроводі. При цьому слід звернути увагу на легкість та надійність управління технологічним процесом.

Результати випробувань виявляють дефекти та недоліки, які заносять в акт випробувань на конкретно взятий апарат.

Апарат вважається прийнятим в експлуатацію після підписання акту з боку представників монтажно-організацій та замовника.

Для дотримання правильного експлуатаційного режиму використовуючих тепло установок необхідні:

- справність і безперебійність роботи устаткування;
- високий рівень кваліфікації обслуговуючого персоналу;
- забезпечення необхідними видами енергії і раціональна її витрата.

Для безперебійної роботи устаткування необхідний: достатній резерв основного і допоміжного устаткування і дотримання правил технічної експлуатації, своєчасне виконання планово-попереджувальних ремонтів устаткування і наявність запасних частин для вузлів і деталей, які швидко зношуються.

8 СТАРТАП

Виробництво single-use біореакторів, ідо розглядається у даному дипломному проєкті, спрямоване па задоволення потреб фармацевтичних підприємств та лабораторій в обладнанні для культивування мікроорганізмів. Дане виробництво спрямоване на вузько цільову спеціалізовану аудиторію. Фармацевтичне обладнання одноразового використання набирає широкої популярності по всьому світу. Воно мас ряд переваг перед стандартним обладнанням про що вже неодноразово згадувалось у роботі.

Розрахунок виробничої потужності

Підприємство працює за стандартним календарним режимом 5 днів на тиждень, тому кількість робочих днів у році складає - 250 днів. За рік підприємством випускається 1750 шт. готових біореакторів. Тоді виробнича потужність підприємства визначається за формулою:

$$P_{\text{вир}} = \frac{M}{T_{\text{вир}}} = \frac{1750}{250} = 7 \text{ шт./дн.}$$

Розрахунок ефективного фонду робочого часу цеху 3 урахуванням робочого

графіка, ефективний фонд робочого часу становить:

$$T_{\text{эф}} = 250 \cdot 16 = 4000 \text{ год.} \quad (59).$$

Основна характеристика режиму роботи підприємства, а також річний фонд роботи останнього наведено в Таблиці 3.

Таблиця 3. Річний фонд робочого часу підприємства

Показник	Норма робочого часу
Календарний фонд робочого часу підприємства, діб	250
Тривалість робочого дня підприємства, год	16
Час простою в планово-попереджувальних ремонтах протягом року, год	T_{np} (див. таблицю 9.2)
Річний фонд робочого часу підприємства, год	$T_{ef} = 4000 - T_{np}$

В умовах графіку виробництва виробництва номінальний робочий фонд робочого часу роботи обладнання становить 4000 год/рік.

Загальний час простою обладнання у ремонтах визначаємо за формулою:

$$T_{np} = a_k t_k + a_c t_c + a_n t_n, \quad (60),$$

де $a_k = 1$, $a_c = 2$, $a_n = 21$. – кількість капітальних, середніх, поточних ремонтів обладнання, $t_k = 80$, $t_c = 32$, $t_n = 5$. – тривалість простою обладнання у капітальному, середньому, поточному ремонті.

Отже, загальний час простою обладнання у ремонтах дорівнює:

$$T_{np} = a_k t_k + a_c t_c + a_n t_n = 1 \cdot 80 + 2 \cdot 32 + 21 \cdot 5 = 249 \text{ год.} \quad (61),$$

Таким чином ефективний час роботи дорівнює:

$$T_{ef} = 4000 - 249 = 3751 \text{ год.} \quad (62),$$

Аналіз техніко-економічних показників

Аналіз техніко-економічних показників підприємства наведено в Таблиці 5.

Таблиця 5. Техніко-економічні показники підприємства

№	Показники	Одиниці вимірювання	Планові значення
1	Річний випуск продукції	шт	750
2	Чисельність персоналу за списком	осіб	42
3	Середньорічний виробіток працівника	шт/особу	18
4	Капіталовкладення: всього; на одиницю продукції	грн грн/кг	15 639 726 2 979
5	Повна собівартість продукції: всього; на одиницю продукції	грн грн/кг	7 740 800 1474,4
6	Ринкова вартість продукту	грн/кг	25 000
7	Прибуток всього на одиницю продукції	грн грн/кг	18 750 000 2 500
8	Рентабельність підприємства	%	119,8
9	Термін повернення капіталовкладень	місяців	10,8

Розрахунок собівартості продукту і вартості проекту. Розрахунок капітальних витрат на будівництво нового підприємства

Витрати на спорудження будівель та споруд цеху відсутні, оскільки їх купують уже готовими. Вартість будівель та споруд, а також річна сума амортизаційних відрахувань на них наведені в Таблиці 7.

Розрахунок вартості сировини, матеріалів та напівфабрикатів

Таблиця 6. Розрахунок вартості сировини, матеріалів та напівфабрикатів

№	Найменування	Вартість, грн/шт. (кг, л)	Кількість, шт. (кг, л)	Сума, грн/рік
1	Основна сировина: – гранули поліетилентерафталату;	33 грн/кг	92 925 кг	3 066 525
	– сталь хірургічна;	110 грн/кг	4 200 кг	462 000
	– гранули поліпропіленів;	22 грн/кг	5 700 кг	125 400
2	Допоміжні матеріали:	-	-	1 200 000

	— запасні частини;		
3	Інше	-	350 000
	Сума	-	4 123 925

Розрахунок вартості палива та енергії на технологічні потреби

У Таблиці 8 наведені основні витрати електросенергії на технологічні процеси, а у Таблиці 9 наведено **розрахунок** вартості енерговитрат, водопостачання та водовідведення на технологічні потреби виробництва.

Таблиця 7. Зведений кошторис витрат на будівництво цеху

№	Найменування основних фондів	Кількість, шт	Ціна, тис. грн/шт	Транспортно-заoticівельні витрати, тис. грн/шт	Інші витрати, тис. грн/шт	Вартість одиниці, тис. грн/шт	Загальна вартість, тис. грн	Термін експлуатації, років	Ліквідційна вартість, тис. грн	Річна сума амортизаційних втрат, тис. грн/рік
1	Будівлі і споруди цеху	1	-	-	-	5 800	5 800	100	-	58
2	Запірна і трубопровідна арматура	7450	-	-	-	100	754	10	50	70,4
Обладнання, що використовується на виробництві										
3	Реактор-змішувач	3	37,6	0,4	2	40	120	15	10	7,334

4	Фільтрпрес	1	75,2	0,8	4	80	80	10	7	7,3
5	Відстійник	1	18,8	0,2	1	20	20	20	1,7	0,915
6	Випарний апарат	5	94	1	5	100	500	10	42	45,8
7	Реактор-кристалізатор	2	32,9	0,35	1,75	35	70	15	6	4,267
8	Центрифуга	1	65,8	0,7	3,5	70	70	10	6	7,6
9	Сушарка барабанна	1	112,8	1,2	6	120	120	10	10	11
10	Автомат для фасування і пакування	2	159,8	1,7	8,5	170	340	10	28	31,2
11	Збірник	11	9,4	0,1	0,5	10	110	15	9	6,734
12	Насос	5	0,658	0,007	0,035	0,7	3,5	5	-	0,7
13	Барометричний конденсатор	1	13,16	0,14	0,7	14	14	5	1	2,6
	Сума	-	-	-	-	-	1447,5	-	120,7	125,45

Таблиця 8. Розрахунок вартості електроенергії на технологічні потреби

№	Найменування	Потужність, кВт	Кількість, шт.	Коефіцієнт попиту	Коефіцієнт збільшення потужності	Загальна потужність обладнання, кВт	Ефективний час роботи, год/рік	на електроенергії одиницю обладнання,	Загальні витрати електроенергії, кВт/рік
1	Реактор-змішувач	18,5	1	0,9	1,2	22,6	3751	84 772	84772
2	Фільтрпрес	14	1	0,9	1,2	16,8	3751	63 016	63016

Таблиця 9. Розрахунок вартості енерговитрат, водопостачання та водовідведення

№	Найменування	Кількість, од./рік	Ціна, грн/од.	Сума, грн/рік
1	Електроенергія силова	992 965 кВт	2,13 грн/кВт	2 115 015,45
2	Електроенергія, що витрачається на освітлення	17 184,8 кВт	2,13 грн/кВт	36 603,62
3	Теплова енергія	430 Гкал	1250 грн/Гкал	537 500
4	Водопостачання	30 000 м ³	9 грн/м ³	270 000
5	Водовідведення	30 000 м ³	11 грн/м ³	330 000
	Сума	-	-	1 137 500

Потреба в електроенергії, що витрачається на освітлення, визначається за формулою:

$$E = \frac{T \cdot S \cdot a \cdot K \cdot 1,02 \cdot 1,05}{1000}, \quad (63),$$

де T – час роботи штучного освітлення, год.; S – площа, яка освітлюється, м²; a – потужність на 1 м² поверхні, Вт (8...15Вт); K – коефіцієнт одночасного горіння (0,8...0,85); 1,02 – коефіцієнт, який враховує чергове освітлення.

Споживачі електроенергії для освітлення:

– виробництво:

$$E_d = \frac{4000 \cdot 350 \cdot 13 \cdot 0,85 \cdot 1,02 \cdot 1,05}{1000} = 16\,568 \text{ кВт}; \quad (64),$$

– склади:

$$E_c = \frac{600 \cdot 150 \cdot 8 \cdot 0,8 \cdot 1,02 \cdot 1,05}{1000} = 616,8 \text{ кВт}; \quad (65),$$

Разом електроенергії, що витрачається на освітлення:

$$E = E_d + E_c = 16\,568 + 616,8 = 17\,184,8 \text{ кВт}; \quad (66).$$

Витрати на електроенергію, що витрачається на освітлення, наведені в Таблиці

Підприємство працює за графіком, тобто 250 днів на рік. У такому випадку час роботи одного працівника складає 250 днів. Графік змінності персоналу наведено в таблиці 22, а річний фонд заробітної плати працівників - в Таблиці 11.

Таблиця 10. Графік змінності

Дата № бригади	1.01.2019	2.01.2019	3.01.2019	4.01.2019	5.01.2019	6.01.2019	7.01.2019	8.01.2019	9.01.2019	10.01.2019	11.01.2019	12.01.2019	13.01.2019	14.01.2019	15.01.2019	16.01.2019	17.01.2019	...
I бригада	1	1	1	1	1	В	В	2	2	2	2	2	В	В	1	1	1	...
II бригада	2	2	2	2	2	В	В	1	1	1	1	1	В	В	2	2	2	...

Примітка. 1 – перша зміна; 2 – друга зміна; В – вихідний.

Розрахунок цехових витрат

Цехові витрати включають основну та додаткову заробітну плату цехового персоналу, витрати на утримання і поточне налагодження виробничих будинків і споруд, амортизацію виробничих будинків і споруд та витрати на охорону праці. Кошторис цехових витрат наведений у Таблиці 12.

Таблиця 11. Річний фонд оплати праці працівників цеху

№	Посада	Кількість працівників в бригаді, осіб	Кількість бригад, шт	Ставка одного працівника, грн/год	Заробітна плата одного працівника за місяць, грн/міс	Сума заробітної плати усіх працівників, що займають дану посаду за рік, грн/рік	Нарахування на фонд оплати праці, грн/рік
1	Головний технолог цеху	1	-	210	35 000	420 000	84 000
2	Головний інженер цеху	1	-	210	35 000	420 000	84 000
3	Пачальник цеху (керівник бригади)	1	2	168	28 000	672 000	134 400
4	Технолог	4	2	72	12 000	1 152 000	230 400

5	Лаборант	6	2	54	9 000	1 296 000	259 200
6	Інженер	3	2	72	12 000	864 000	172 800
7	Інженер-ремонтник	2	2	84	14 000	672 000	134 400
8	Прибиральник обладнання	2	2	42	7 000	336 000	67 200
9	Прибиральник приміщень	2	2	42	7 000	336 000	67 200
	Сума	-	-	-	-	5 016 000	1 233 600

Таблиця 12. Кошторис цехових витрат

№	Стаття витрат	Витрати, грн
1	Зарплата цехового персоналу	5 016 000
2	Нарахування на ФОП	1 233 600
3	Витрати на отримання будівель, витрат та обладнання: - енерговитрати, водопостачання та водовідведення; - амортизація	1 137 500 49 456
4	Витрати на ремонт та експлуатацію	1 484 000
5	Витрати на випробування, дослідження, реконструкцію, винахідництво	1 950
6	Витрати на охорону праці	2 600
7	Інші цехові витрати	1 300 000
	Сума	10 225 106

Розрахунок загальнозаводських витрат

Сума загальнозаводських витрат складає, приблизно, десяту частину цехових витрат і становить 1 225 106 грн.

Розрахунок собівартості продукції

Розрахунок собівартості готової лимонної кислоти наведено в Таблиці 13.

Таблиця 13. Калькуляція собівартості готової продукції цеху

№	Стаття калькуляції	Витрата на річну програму, грн/рік	Витрата на одиницю готової продукції, грн/шт
1	Основна сировина	587 400	111,89
2	Допоміжні матеріали	1 550 000	295,24
	Сума	2 137 400	407,12
3	Енерговитрати, водопостачання та водовідведення	1 137 500	216,67
4	Заробітна плата персоналу цеху	5 016 000	955,43
5	Нарахування на ФОП	1 233 600	234,97
6	Цехові витрати, не включені в пункти 1-5	3 975 506	757,24
7	Загальнозаводські витрати	1 225 106	233,35
	Повна собівартість	7 740 800	1 474,44

Висновки

Економічні розрахунки, проведені у цьому магістерському проекті дають зрозуміти доцільність виробництва біореакторів одноразового типу. Зараз цей ринок має малу конкуренцію і неймовірно високу рентабельність. Більшість клієнтів це представники європейських держав, економіка яких на набагато вищому рівні ніж нас, це впливає на кінцеву ціну товару, і робить проект підприємства з виробництва біореакторів одноразового використання неймовірно перспективним.

ВИСНОВКИ

В даному магістерському проекті розраховано та спроектовано перемішуючий пристрій для біореактора одноразового використання.

У ферментері відбуваються процеси масообміну, теплообміну, а також гідродинамічні процеси. Проведено гідродинамічне моделювання в середовищі ANSYS.

Проведено експериментальні дослідження розробленої конструкції перемішуючого пристрою.

Проведено теоретичні конструктивні розрахунки задля підтвердження працездатності розробленого апарату.

Результати конструктивних розрахунків підтверджені комп'ютерним моделюванням розробленої конструкції біореактора в середовищі Solid Works. Розроблено start-up проект задля запуску серійного виробництва розробленого пристрою.

За результатами всіх проведених розрахунків та досліджень підтверджено всі заявлені характеристики розробленого перемішуючого пристрою та single-use біореактора в цілому. Апарат є робочим та може використовуватись на підприємствах.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Бекер М.Е. Введение в биотехнологию. Пер. с латыш. (Рига, 1974). - М.: «Пищевая промышленность», 1978.-237с.
2. Бирюков В.В. Основы промышленной биотехнологии [Учебники и учеб пособия для студентов высш. учеб, заведений]. - М.: Колос, 2004. — 296 с.
3. Сидоров Ю. І., Влязло Р. Й., Новіков В. П. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні розрахунки. Приклади і задачі. Основи проектування: Навчальний посібник. - Львів: «Інтелект-Захід», 2008.-736с.
4. Грачева И. М., Гаврилова Н. Н., Иванова Л. А. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот и жиров. - М.: Пищевая промышленность, 1980.-448 с.
5. Оборудование микробиологических производств / Калунянц К. А., Голгер Л. И., Еллашов В. Е. - М.: Агропромиздат, 1987. - 398 с.
6. Мосичев М, С., Складнев А. А., Котов В. Б. Общая технология микробиологических производств. - М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1982. - 264 с.
7. Машины и аппараты химических производств: Примеры и задачи. Учеб, пособие для студентов вузов, обучающихся по специальности «Машины и аппараты химических производств» / И. В. Доманский, В. П. Исаков, Г. М. Островский и др.; Под общ. ред. В. Н. Соколова. - Л.: Машиностроение, Ленингр. отд-ние, 1982. - 384 с.
8. Блинов Н. П. Основы биотехнологии. Для студентов институтов; аспирантов и практических работников. - СПб.: Издательская фирма «Наука», 1995.-600 с.
9. Біотехнологія: Підручник / В. Г. Герасименко, М. О. Герасименко, М. І. Цвіліховський та ін.; Під общ. ред. В. Г. Герасименка. - К.: Фірма «ІНКОС», 2006. - 647 с.

10. Гельперин Н.И. Основные процессы и аппараты химической технологии. В двух книгах. - М.: Химия, 1981 г. — 812 с.
11. Дытнерский Ю.И. Процессы и аппараты химической технологии: Учебник для вузов. Изд. 2-е. В 2-х кн. Часть 1. Теретические основы процессов химической технологии. Гидромеханические и тепловые процессы и аппараты. М.: Химия, 1995. — 400 с.
12. Иоффе И.Л. Проектирование процессов и аппаратов химической технологии: Учебник для техникумов / Иоффе И.Л. — Л.: Химия, 1991. — 352 с.
13. Новаковская С.С., Шишацкий Ю.И. Справочник по производству хлебопекарных дрожжей. - М.: «Пищевая промышленность», 1980. - 375 с.
14. Павлов К.Ф., Романков П.Г., Носков А.А. Примеры и задачи по курсу процессов и аппаратов химической технологии. Учебное пособие для вузов / Под ред. чл.-корр. АН СССР П.Г. Романкова. - 10-е изд., перераб. и доп. - Л.: Химия, 1987.-576 с.
15. ГОСТ 20680-86. Аппараты с механическими перемешивающими устройствами вертикальные. Общие технические требования. - Введ. 01.01.1988
16. ГОСТ 6533-78. Днища эллиптические отбортованные стальные для сосудов, аппаратов и котлов. Основные размеры. - Введ. 01.01.1980
17. Колосков С.П. Оборудование предприятий ферментной промышленности. - М.: Издательство «Пищевая промышленность», 1969. - 384 с.
18. Федосеев К.Г. Процессы и аппараты биотехнологии и химико-фармацевтической промышленности. - М.: Издательство «Медицина», 1969, - 200 с.
19. ГОСТ 12.2.003-91. ССБТ. Оборудование производственное. Общие требования безопасности. - Введ. 01.01.1992
20. Основи охорони прац: Пщручник. 2-ге видання, доповнене та перероблене / К.Н.Ткачук, М.О. Хал1мовський, В.В.Зацарний, Д.В.Зеркалов / За ред. К.Н. Ткачука 1 М.О. Хал1мовського. - К.: Основа, 2006. -345 с.

21. Охрана труда в химической промышленности / Г.В. Макаров, А.Я. Васин, Л.К. Маринина.

22. Смирнов Н.Н., Волжинский А.И. Химические реакторы в примерах и задачах 1977 г. - 241 с.

23. Мікульонок І.О. Виготовлення, монтаж та експлуатація обладнання хімічних виробництв [Текст] : підруч. [для студ. вищ. навч. закл.]. - К. : НТУУ «КПІ», 2012. - 419 с.: іл. - Бібліогр.: с. 413-415.

24. Method for the production of high-level soluble human recombinant interferon alpha in E. coli and vectors useful for such a production; pat. US 2009/0258394 A1 United States Patent Application Publication / inventors: Mohamad Dahmani Fathallah, Imen Rabhi-Essafi; assignee: Institut Pasteur

25. Мельник, А.И. Получение очищенного рекомбинантного $\alpha 2b$ - интерферона человека / А.И. Мельник, И.В. Орловская, Н.М. Жолобак, Н.Я. Спивак // Мікробіологічний журнал. - 2012. - Т. 74, №3. - С. 72-78.